



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Evaluación del efecto tensioactivo de extractos hidroalcohólicos de tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash, bajo principios del biocomercio

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Ivette Katherine LEÓN ROJAS,

Yuly Yesenia COTRINA ORDOÑEZ

ASESORES

Paul Iván GUTIÉRREZ ELESCANO

Carlos Santos BRAVO CCATAMAYO (Coasesor)

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

León I, Cotrina Y. Evaluación del efecto tensioactivo de extractos hidroalcohólicos de tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash, bajo principios del biocomercio [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de de Farmacia y Bioquímica; 2020.

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	—
DNI o pasaporte del autor	72435168
Código ORCID del asesor	0000-0003-3426-5915
Código ORCID del Co-asesor	0000-0002-9846-9864
DNI o pasaporte del asesor	07506217
DNI o pasaporte del Co - Asesor	42718520
Grupo de investigación	—
Agencia financiadora	—
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Cercado de Lima - Lima - Perú
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2017 - 2020
Disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05

Hoja de metadatos complementarios

Código ORCID del autor	0000-0002-0581-130X
DNI o pasaporte del autor	47951186
Código ORCID del asesor	0000-0003-3426-5915
Código ORCID del Co-asesor	0000-0002-9846-9864
DNI o pasaporte del asesor	07506217
DNI o pasaporte del Co - Asesor	42718520
Grupo de investigación	DERFARM (Grupo de investigación de recursos naturales para el desarrollo de productos farmacéuticos y dermocosméticos)
Agencia financiadora	—
Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Cercado de Lima - Lima - Perú
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2017 - 2020
Disciplinas OCDE	Farmacología, Farmacia http://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.05



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS VIRTUAL

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

"Evaluación del efecto tensioactivo de extractos hidroalcohólicos de tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash, bajo principios del Biocomercio"

Que presentan las Bachilleres en Farmacia y Bioquímica:

YULY YESENIA COTRINA ORDOÑEZ E
IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

Sobresaliente (18) Dieciocho

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 30 de noviembre de 2020

Dr. Américo Jorge Castro Luna
Presidente

INFORMACIÓN GENERAL	
Título del Proyecto	Evaluación del efecto tensioactivo de extractos hidroalcohólicos de tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i> recolectados de Huari-Áncash, bajo principios del Biocomercio
Área de investigación (*)	Ciencias de la Salud
Líneas de Investigación (*)	B.2.1.1. Plantas medicinales con potencial farmacéutico y productos naturales terapéuticos: (estudios fitoquímicos, estudios toxicológicos, estudios farmacológicos, rocesos de su industrialización)
Ubicación geográfica donde se desarrolla la investigación (incluir localidades y/o coordenadas geográficas)	Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos – Cercado de Lima - Lima - Perú
Institución que financia si corresponde	-
Año o rango de años que abarcó	2017-2020
DATOS DEL TESISISTA	
Apellidos y Nombres	Cotrina Ordoñez Yuly Yesenia
Número de matrícula	13040098
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	Egresada
Código ORCID (opcional)	0000-0002-0581-130X
DATOS DEL TESISISTA	
Apellidos y Nombres	León Rojas Ivette Katherine
Número de matrícula	13040013
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	Egresada
Código ORCID (opcional)	-

DATOS DEL ASESOR I	
Apellidos y nombres	Gutierrez Elescano Paul Ivan
Código docente: 0A1909	Categoría: Auxiliar Clase: 40H
Máximo grado alcanzado	Bachiller
Código ORCID (obligatorio)	0000-0003-3426-5915
Título profesional	Químico Farmacéutico
Departamento Académico al que pertenece	Departamento Académico de Farmacotecnia y Administración Farmacéutica
Instituto de Investigación al que pertenece	-
Grupo de investigación al que pertenece indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación	DERFARM (Grupo de investigación de recursos naturales para el desarrollo de productos farmacéuticos y dermocosméticos) / Coordinador
DATOS DEL ASESOR II (Co-Asesor)	
Apellidos y nombres	Bravo Ccatamayo Carlos Santos
Código docente: -	Categoría: - Clase: -
Máximo grado obtenido	Bachiller
Título profesional	Químico Farmacéutico
Código ORCID (obligatorio)	0000-0002-9846-9864
Centro laboral (si es que fuera externo a la UNMSM)	Kussa Supply S.A.C
Departamento Académico al que pertenece	-
Instituto de Investigación al que pertenece	-
Grupo de investigación al que pertenece	DERFARM (Grupo de investigación de recursos naturales para el desarrollo de productos farmacéuticos y dermocosméticos)
Indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación	Miembro Adjunto Externo

DEDICATORIAS

A Dios, quien se encuentra siempre con nosotros.

A nuestros amados padres, por su apoyo incondicional en la realización de este trabajo. Así como a nuestros abuelitos, pues fueron y son parte de nuestra motivación.

A nuestro asesor Paul Gutierrez, co-asesor Carlos Bravo, y todos los profesores que nos apoyaron para hacer de este proyecto un hecho.

Al Centro Poblado Huamantanga y a los pobladores que nos facilitaron la obtención de la muestra vegetal.

A las personas que contribuyeron con su conocimiento tradicional el cual fue una pieza clave para el inicio de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de investigación fue realizado con mucho empeño y pasión, en el cual participaron distintas personas, ya sea opinando, corrigiendo, aconsejándonos con su experiencia y apoyándonos con instalaciones, materiales, equipos de laboratorios y reactivos. Por lo cual agradecemos en este apartado la colaboración de todos aquellos quienes paso a paso ayudaron a la culminación de esta investigación.

En primer lugar, a nuestro asesor de tesis, QF. Paul Gutierrez Elescano, nuestro más amplio agradecimiento por habernos guiado, por su paciencia y valiosa dirección en el desarrollo y culminación satisfactoria de la tesis.

A nuestro coasesor QF. Carlos Bravo Ccatamayo, un especial agradecimiento por sus todos sus consejos, apoyo y seguimiento continuo en la realización de la investigación.

Un especial agradecimiento al QF. William Peña Jara, por su orientación, su paciencia y sabiduría compartida con nosotras para darle robustez a nuestra investigación.

Nuestros agradecimientos a todos los profesores que nos brindaron su apoyo con su vasto conocimiento y asimismo por brindarnos el acceso a los laboratorios de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de nuestra Alma Máter Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

A nuestros compañeros y amigos Jossimar Huamani, Carlos Medina, Diego Yi, Diego Valdivieso, Eva Arredondo, un especial agradecimiento.

Asimismo, hacemos presente nuestros agradecimientos al Departamento Académico de Farmacotecnia y Administración Farmacéutica, Departamento de Química Básica y Aplicada, Laboratorio de Fisicoquímica, por las instalaciones y equipos prestados para la realización de la parte experimental de nuestra tesis. Al

equipo de vigilancia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, quienes entendieron nuestras tardanzas al salir de las instalaciones de la Universidad para poder culminar con procesos que podrían haberse visto perjudicados sino se concluían un mismo día.

Agradecemos el apoyo incondicional brindado por nuestros padres, quienes entendieron nuestras ausencias y momentos de cansancio, demostrando su interés y preocupación por el cumplimiento de esta meta. Nuestro máspreciado agradecimiento hacia ellos.

A todos ustedes, nuestro mayor reconocimiento y gratitud.

ÍNDICE

RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Hipótesis	3
1.1.1 Hipótesis general	3
1.1.2 Hipótesis específicas	3
1.2 Objetivos	4
1.2.1 Objetivo general	4
1.2.2 Objetivos específicos	4
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Tensiactivos	5
2.1.1 Clasificación de tensioactivos	5
2.2 Saponinas	8
2.2.1 Fuentes de obtención de saponinas	11
2.2.2 Métodos de extracción de saponinas	12
2.2.3 Métodos de identificación de saponinas	17
2.2.4 Métodos de cuantificación de saponinas	19
2.3 Aplicaciones de los tensioactivos	20
2.4 Composición del cabello	25
2.5 <i>Ullucus tuberosus</i>	27
2.6 Biocomercio	29
2.6.1 Principios del biocomercio	29
2.6.2 Enfoques del Biocomercio	29
2.6.3 Importancia del biocomercio	30
2.6.4 Biocomercio en Perú	31

2.7	Escala tipo Likert	33
III.	METODOLOGÍA.....	34
3.1	Elaboración de extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i> recolectados del Huari-Áncash bajo principios del Biocomercio	34
3.1.1	Recolección de la planta bajo principios del biocomercio	34
3.1.2	Identificación y procesamiento de la planta	36
3.1.3	Elaboración del extracto hidroalcohólico de tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i>	38
3.2	Evaluación de las características fisicoquímicas de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i> recolectados de Huari-Áncash	41
3.2.1	Propiedades fisicoquímicas del extracto.....	41
3.2.2	Marcha fitoquímica preliminar y pruebas de identificación de saponinas.....	41
3.3	Comparación del efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i> recolectados de Huari-Áncash	41
3.3.1	Cuantificación de saponinas de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i>	41
3.3.2	Determinación del nivel de espuma.....	49
IV.	RESULTADOS	51
4.1	Elaboración de extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i> recolectados del Huari-Áncash bajo principios del Biocomercio	51
4.1.1	Recolección de la planta bajo principios del biocomercio	51
4.1.2	Identificación y procesamiento de la planta	55
4.1.3	Elaboración del extracto hidroalcohólico de tallos de <i>Ullucus tuberosus</i>	60

4.2	Evaluación de las características fisicoquímicas de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i> recolectadas de Huari-Áncash	61
4.2.1	Propiedades fisicoquímicas de extractos.....	61
4.2.2	Marcha fitoquímica preliminar y pruebas de identificación de saponinas.....	62
4.3	Comparación del efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i> recolectados de Huari-Áncash	63
4.3.1	Cuantificación de saponinas de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de <i>Ullucus tuberosus</i>	63
4.3.2	Determinación del nivel de espuma.....	65
V.	DISCUSIÓN	69
VI.	CONCLUSIONES.....	86
VII.	RECOMENDACIONES	87
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
IX.	ANEXOS	97

RESUMEN

Objetivo: evaluar el efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre “Ullukullutu” y cultivada “Olluco” de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash-Perú bajo principios del Biocomercio.

Materiales y métodos: se realizó un estudio experimental de evaluación de saponinas de extractos hidroalcohólicos por tamizaje fitoquímico, cuantificación espectrofotométrica y determinación de formación de espuma de las subespecies de *Ullucus tuberosus* recolectadas bajo principios del Biocomercio los cuales fueron evaluados mediante la escala tipo Likert.

Resultados: se elaboraron los extractos hidroalcohólicos de ambas subespecies recolectadas bajo principios del Biocomercio observando cumplimiento muy alto del Principio 2 y Principio 6; cumplimiento alto del Principio 1, Principio 5 y Principio 7; cumplimiento medio del Principio 3 y cumplimiento bajo del Principio 4. Asimismo, se analizó pH, densidad de dichos extractos y mediante tamizaje fitoquímico se identificó mayor contenido de antocianinas, lactonas y cardenólidos en Ullukullutu que, en Olluco, en el cual predominan alcaloides, aminoácidos y saponinas; asimismo, se determinó la presencia de esteroides, triterpenos, taninos y fenoles en ambas subespecies. Se cuantificó saponinas por el método modificado de ácido sulfúrico – vainillina resultando mayor contenido en los tallos de Olluco (64,4 %) que en Ullukullutu (17,9%) respecto a 100 g de polvo seco y en complemento se evidenció la capacidad de formación de espuma.

Conclusión: se evaluó que los extractos hidroalcohólicos de los tallos de ambas subespecies Ullukullutu y Olluco, recolectados cumpliendo los principios del Biocomercio bajo el enfoque ecosistémico, presentan efecto tensioactivo al determinarse la presencia de saponinas.

Palabras clave: *Ullucus tuberosus*, Biocomercio, extractos hidroalcohólicos, tamizaje fitoquímico, saponinas, cuantificación espectrofotométrica.

ABSTRACT

Objective: to evaluate the surfactant effect of the hydroalcoholic extracts of the stems of the wild subspecies "Ullukullutu" and cultivated "Olluco" of *Ullucus tuberosus* collected from Huari-Ancash-Peru under Biotrade principles. **Materials and methods:** an experimental study was carried out to evaluate the saponins of hydroalcoholic extracts by phytochemical screening, spectrophotometric quantification and determination of foam formation of the *Ullucus tuberosus* subspecies collected under Biotrade principles, which were evaluated using the Likert-type scale. **Results:** the hydroalcoholic extracts of both subspecies, which were collected under Biotrade principles, showing very high compliance with Principle 2 and Principle 6; high compliance with Principle 1, Principle 5 and Principle 7; medium compliance with Principle 3 and low compliance with Principle 4. In addition to this, pH and density of the extracts were analyzed and by means of phytochemical screening, a higher content of anthocyanins, lactones and cardenolides was identified in Ullukullutu than in Olluco, in which alkaloids, amino acids predominate. and saponins; additionally, the presence of steroids, triterpenes, tannins and phenols in both subspecies was determined. Saponins were quantified by the modified sulfuric acid-vanillin method, resulting in higher content in the stems of Olluco (64,4%) than in Ullukullutu (17,9%) with respect to 100 g of dry powder and in addition the foam formation capacity was evidenced. **Conclusion:** it was evaluated that the hydroalcoholic extracts of the stems of both Ullukullutu and Olluco subspecies, collected complying with the Biotrade principles under the ecosystem approach, present a surfactant effect when determining the presence of saponins.

Key words: *Ullucus tuberosus*, BioTrade, hydroalcoholic extracts, phytochemical screening, saponins, spectrophotometric quantification.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de una saponina.

Figura 2. Estructura de una saponina monoglicosilada.

Figura 3. Estructura de una saponina diglicosilada.

Figura 4. Estructura de una saponina triglicosilada.

Figura 5. Técnicas de extracción actuales utilizadas en la extracción de saponinas de materiales vegetales.

Figura 6. Diagrama esquemático de una sección transversal de una fibra capilar humana.

Figura 7. Unidad pilosebácea con una fibra capilar en su folículo y zonas de proteína, síntesis celular, diferenciación, queratinización y región de la fibra capilar permanente a medida que la fibra emerge a través del cuero cabelludo.

Figura 8. Ejes temáticos de la estrategia Nacional del Biocomercio.

Figura 9. Procedimiento de recolección con cumplimiento de Biocomercio.

Figura 10. Procesamiento de muestra fresca a polvo.

Figura 11. Elaboración de extracto hidroalcohólico - filtración - concentración - decantación y evaporación.

Figura 12. Extractos obtenidos luego de filtración grosera.

Figura 13. Extractos obtenidos luego de filtración con papel filtro y whatman.

Figura 14. Elaboración de curva de calibración de escina.

Figura 15. Preparación de muestras para la lectura espectrofotométrica.

Figura 16. Procedimiento de Cuantificación de Saponinas por Método Modificado del Ácido sulfúrico – vainillina.

Figura 17. Procedimiento de Determinación de Nivel de espuma.

Figura 18. Proyecto extractos de tallos de *Ullucus tuberosus* – Cumplimiento PYC BC.

Figura 19. Resultados de trámite para autorización de investigación cumpliendo principios del Biocomercio.

Figura 20. Zona de recolección de *Ullucus tuberosus*.

Figura 21. *Ullucus tuberosus* “ullukullutu” (silvestre - enredadera).

Figura 22. *Ullucus tuberosus* “Olluco” (cultivada).

Figura 23. Constancia taxonómica N°069-USM-2017 – Museo de Historia Natural “Ullukullutu”.

Figura 24. Constancia taxonómica N°226-USM-2018 – Museo de Historia Natural “Olluco”.

Figura 25. Comportamiento de secado del Control de Ullukullutu.

Figura 26. Comportamiento de secado del Control de Olluco.

Figura 27. Curva de estándar escina utilizando el método modificado ácido sulfúrico - vainillina.

Figura 28. Nivel espumante de tensioactivos al 0,1%.

Figura 29. Comparación de poder espumante de soluciones tensioactivas al 0,1%.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los tensioactivos.

Tabla 2. Campos de aplicación de los tensioactivos en la industria.

Tabla 3. Análisis de melaninas en cabello humano según Borges *et al.*

Tabla 4. Empresas peruanas que aplican el Biocomercio.

Tabla 5. Cantidades utilizadas para preparación de los extractos.

Tabla 6. Descripción de operaciones de extracción-filtración y cantidades obtenidas.

Tabla 7. Concentraciones de estándar Escina.

Tabla 8. Ensayo modificado de ácido sulfúrico – vanillin.

Tabla 9. Evaluación de cumplimiento de PYC BC – Escala Tipo Likert.

Tabla 10. Pesos obtenidos de muestras de *Ullucus tuberosus*.

Tabla 11. Tiempo total de secado de muestras.

Tabla 12. Comportamiento de secado de peso del control de Ullukullutu.

Tabla 13. Comportamiento de secado de peso del control de Olluco.

Tabla 14. Elaboración de extractos hidroalcohólicos.

Tabla 15. Primera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Ullukullutu.

Tabla 16. Segunda decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Ullukullutu.

Tabla 17. Tercera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Ullukullutu.

Tabla 18. Primera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Olluco.

Tabla 19. Segunda decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Olluco.

Tabla 20. Tercera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Olluco.

Tabla 21. Contenido de saponinas crudas de *Ullucus tuberosus* por evaporación.

Tabla 22. Propiedades fisicoquímicas de extractos de tallos de *Ullucus tuberosus*.

Tabla 23. Resultados de la marcha fitoquímica de *Ullucus tuberosus*.

Tabla 24. Pruebas específicas para saponinas, en *Ullucus tuberosus*.

Tabla 25. Datos de absorbancias para curva de calibración de estándar Escina.

Tabla 26. Lecturas espectrofotométricas de muestras de *Ullucus tuberosus*.

Tabla 27. Contenido total de saponinas de muestras de *Ullucus tuberosus*.

Tabla 28. Porcentaje de contenido total de saponinas de muestras de *Ullucus tuberosus*.

Tabla 29. Nivel de espuma de tensioactivos.

Tabla 30. Altura de espuma generada por tensioactivos en etapa inicial y después de 5 min.

ABREVIATURAS *

SERFOR: Servicio Nacional Forestal y de Fauna silvestre

INIA: Instituto Nacional de Innovación Agraria

INDECOPI: Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual

EtOH: Etanol

NTE: Norma técnica ecuatoriana

INEN: Instituto Ecuatoriano de Normalización

MS: Espectrometría masas (EM)

SLES: Sodium lauryl ether sulfate (Lauril éter sulfato sódico-LESS)

SLS: Sodium lauryl sulfate (Lauril sulfato de sodio-Denominación INCI)

RMN: Resonancia Magnética Nuclear

MAE: Microwave-assisted extractions (Extracción asistida por microondas)

HET CAM: Hen's egg test Chorioallantoic membrane (Ensayo de la membrana corioalantoidea del huevo de gallina)

HPLC: High performance liquid chromatography

OECD: Organization for Economic Co-operation and Development (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico)

CMC: Cell membrane complex (Complejo de membrana celular)

DHI: 5,6-Dihidroxyindol

DHICA: 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic.

UNCTAD: United Nations Conference on Trade and Development Conferencia de las Naciones Unidas sobre Comercio y Desarrollo.

PNPB: Programa Nacional de Promoción al Biocomercio.

CONAM: Consejo Nacional del Ambiente.

CNPB: Comisión Nacional de Promoción de Biocomercio.

DAFAF: Departamento Académico de Farmacotecnia y Administración Farmacéutica.

UNMSM: Universidad Nacional Mayor de San Marcos

TSC: Total saponin content (Contenido total de saponinas)

UAE: Ultrasound-assisted extractions (Extracción asistida por ultrasonido)

ABTS: 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

ELSD: Evaporative Light Scattering Detector

SICE: Centro Europeo de Innovación de Saponinas de Dinamarca

RHS Colour Chart: Tabla de la Real Sociedad Hortícola

MINAGRI: Ministerio de Agricultura y Riego

**Se ha conservado ciertas siglas en inglés, pues son abreviatura de uso en literatura científica.*

ANEXOS

Anexo 1. Agentes tensioactivos y fuentes de obtención.

Anexo 2. Fuentes de saponinas.

Anexo 3. Principios y criterios del biocomercio.

Anexo 4. Reporte de Información sobre cumplimiento de Biocomercio.

Anexo 5. Consentimiento informado.

Anexo 6. Acta de Licencia de Uso – *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “Ullukullutu”.

Anexo 7. Acta de Licencia de Uso – *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”.

Anexo 8. Autorización para Colecta – *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”.

Anexo 9. Evaluación detallada de Cumplimiento PYC BC – Escala tipo Likert

Anexo 10. Mapa del lugar de recolección de la muestra.

Anexo 11. Procedimiento ante Indecopi.

Anexo 12. Documento enviado por Indecopi como conclusión del trámite.

Anexo 13. Procedimiento para autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre – SERFOR.

Anexo 14. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS.

Anexo 15. Procedimiento ante Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA.

Anexo 16. Proceso de recolección de las subespecies de *Ullucus tuberosus*.

Anexo 17. Procesamiento de las muestras.

Anexo 18. Elaboración y tratamiento de extractos hidroalcohólicos de *Ullucus tuberosus*.

Anexo 19. Operación de decantación.

Anexo 20. Operación de evaporación.

Anexo 21. Evaluación de propiedades fisicoquímicas.

Anexo 22. Marcha fitoquímica del extracto de Ullukullutu.

Anexo 23. Marcha fitoquímica del extracto de Olluco.

Anexo 24. Pruebas de identificación de saponinas – Ullukullutu.

Anexo 25. Pruebas de identificación de saponinas – Olluco.

Anexo 26. Especificación del estándar escina para cuantificación de saponinas.

Anexo 27. Determinación del nivel de espuma.

Anexo 28. Procedimiento de determinación de Habilidad Detergente.

Anexo 29. Procedimiento de determinación de Daño Capilar por espectrofotometría UV-VIS.

Anexo 30. Certificado de análisis de estándar *Sepia officinalis*.

I. INTRODUCCIÓN

La presente investigación abarca la evaluación del efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos elaborados a partir de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus*, plantas recolectadas en el Centro Poblado de Huamantanga, Provincia de Huari, Distrito Huari, Región Áncash-Perú; esta recolección fue realizada bajo principios del Biocomercio.

Actualmente la tendencia por el consumo de productos cosméticos “verdes” está generando la búsqueda de ingredientes naturales como alternativa a los sintetizados químicamente, teniendo como ventaja el ser menos tóxicos y ser producidos a partir de sustratos renovables¹. Dentro de las alternativas se encuentran los extractos naturales, los cuales presentan en su composición metabolitos secundarios, entre ellos las saponinas, a las cuales se les atribuye un poder surfactante². Los agentes tensioactivos son ampliamente empleados en diversas industrias, destacando su uso en el rubro cosmético, específicamente en la fabricación de champú; siendo el lauril sulfato de sodio o SLS el más utilizado, el cual tiene propiedades abrasivas para la piel³ y cabello⁴. El mecanismo por el cual los surfactantes o tensioactivos causan daño es por la formación de complejos micelares con las proteínas del cabello generando su disolución, cuanto mayor sea la densidad de carga del agregado de surfactante, más daño es causado por disolución de proteínas⁴. Por lo expuesto, la problemática del uso continuo del champú tiene un impacto en el estado saludable y estético del cabello, debido a esto, los ingredientes, como los tensioactivos, deben ser calificados como seguros.

La investigación de esta problemática se realiza en primer lugar por el interés de comprobar la aplicación que le daban los antiguos pobladores de Huamantanga a la planta *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre, denominada “Ullukullutu”; específicamente los tallos de la planta eran utilizados para el lavado del cabello, otorgando una sensación de limpieza. Asimismo, se investiga a la subespecie cultivada de *Ullucus tuberosus* “olluco” para conocer si por ser de la misma

especie, contenía también los metabolitos secundarios responsables del poder de detergencia.

Por otra parte, se busca conocer los trámites y permisos para la investigación de la planta *Ullucus tuberosus* oriunda del Perú, por lo que se indaga los procedimientos a realizarse en las instituciones INIA y SERFOR. Previo a la recolección se presenta una solicitud en Indecopi y se verifica la necesidad o no del registro de algún conocimiento colectivo, amparado en la Ley 27811⁵; esto, en el marco del cumplimiento de los principios del Biocomercio.

Se realiza una serie de entrevistas con el alcalde del Centro Poblado de Huamantanga, pobladores y representantes de instituciones como INIA, Indecopi y SERFOR. Asimismo, se realizan pruebas experimentales para el cumplimiento de los objetivos establecidos; siendo el objetivo general el de evaluar el efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectadas de Huari-Áncash bajo principios del biocomercio. El desarrollo de los apartados sigue el orden establecido de los objetivos específicos, es así que en el primer apartado se elaboran los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectadas de Huari-Áncash bajo el cumplimiento de los principios del biocomercio (evaluado mediante la escala tipo Likert); abarcando desde la recolección, procesamiento de la muestra y elaboración de los extractos, de los cuales se obtiene saponinas crudas después de un tratamiento. En el segundo apartado se evalúan las características fisicoquímicas de los extractos hidroalcohólicos, como la medición de pH, densidad, tamizaje fitoquímico general y específico para saponinas. En el último apartado, se realiza la comparación del efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos mediante la cuantificación de saponinas de ambas subespecies y se evalúa la capacidad de formación de espuma.

1.1 Hipótesis

1.1.1 Hipótesis general

- Los extractos hidroalcohólicos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash poseen efecto tensioactivo.

1.1.2 Hipótesis específicas

- Es factible la elaboración de extractos hidroalcohólicos a partir de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash, bajo principios del Biocomercio.
- Los extractos hidroalcohólicos obtenidos de tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash contienen saponinas.
- El extracto hidroalcohólico obtenido de tallos de la subespecie silvestre de *Ullucus tuberosus* recolectado de Huari-Áncash posee mayor poder detergente que la subespecie cultivada.

1.2Objetivos

1.2.1 Objetivo general

- Evaluar el efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash, bajo principios del Biocomercio.

1.2.2 Objetivos específicos

- Elaborar extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash, bajo principios del Biocomercio.
- Evaluar las características fisicoquímicas de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash.
- Comparar el efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Tensioactivos

Los tensioactivos llamados también agentes de superficie o surfactantes son compuestos de naturaleza anfifílica, constituida por un grupo hidrofílico (grupo cabeza) y uno hidrofóbico (grupo cola hidrocarbonada); lo antes mencionado le otorga variadas cualidades, entre ellas, reducción de la tensión superficial del agua, formación de monocapas de esparcimiento, micelas, emulsiones y/o microemulsiones, entre otras. Sin embargo, es importante mencionar que se puede generalizar a los compuestos anfifílicos en su totalidad como tensioactivos ya que se requiere que tenga una longitud de cadena hidrófoba de ocho o más átomos de carbono (hidrofobicidad mínima) y cuente con una polaridad mínima (relación hidrófila/hidrófoba adecuada) en base a los grupos polares que contenga. Adicionalmente, estos compuestos anfifílicos deben tener la capacidad de configurar agregados micelares⁶.

2.1.1 Clasificación de tensioactivos

- **Tomando en cuenta la estructura de la molécula**, específicamente de acuerdo a la forma de disociación en el agua (en base al carácter iónico del grupo hidrófilo); los tensioactivos se clasifican en cuatro clases, según la **Tabla 1** que se presenta a continuación⁶:

Tabla 1. Clasificación de los tensioactivos

TIPO	DESCRIPCIÓN
Tensioactivos aniónicos	Tienen grupos funcionales que se ionizan en disolución acuosa produciendo iones orgánicos con carga negativa, generando la actividad superficial. Dentro de este grupo están los detergentes sintéticos como los alquil benceno sulfonatos, los jabones (sales de sodio de ácidos grasos), los agentes espumantes como el lauril sulfato, los humectantes del tipo sulfocinato, los dispersantes del tipo lignosulfonatos, etc. Siendo los de mayor demanda en formulaciones de detergentes en polvo para lavado de ropa y en productos líquidos como lavavajillas.
Tensioactivos catiónicos	Con grupos funcionales que se ionizan en disolución acuosa produciendo iones orgánicos con carga positiva, generando la actividad superficial. Gran parte son compuestos nitrogenados del tipo sal amina grasa o de amonio cuaternario. Poseen como ventaja ser compatibles con los tensioactivos no iónicos y anfotéricos pero tienen como desventaja el ser incompatibles con los tensioactivos aniónicos. Su fabricación es más costosa que los de tipo aniónicos. Son utilizados por su característica bactericida y su fácil adsorción sobre sustratos biológicos o inertes con carga negativa, esto les otorga la capacidad de ser considerados agentes antiestáticos, emulsionantes (a pH inferiores a 7), hidrofobantes, así como inhibidores de corrosión.
Tensioactivos no iónicos	Disueltos en agua no originan iones. Tienen grupos funcionales con alta afinidad por el agua entre ellos los grupos del tipo alcohol, fenol, éter o amida, lo que los torna hidrosolubles; cabe mencionar que gran parte de estos surfactantes pueden volverse relativamente hidrofílicos debido a la presencia de una cadena poliéter del tipo polióxido de etileno. El grupo hidrófobo es usualmente un radical alquilo o alquil benceno y en ciertas ocasiones, una estructura de origen natural como un ácido graso, en caso de necesitar una baja toxicidad. Poseen compatibilidad con todos los tipos de tensioactivos. Son un grupo de tensioactivos de gran y surtida aplicación. Presentan bajo poder espumante y suelen ser productos líquidos o pastosos.
Tensioactivos anfotéricos	Tienen grupos funcionales capaces de ionizarse en disolución acuosa otorgando al compuesto el carácter de aniónico o catiónico, en base al medio. No son muy usados como insumos para detergentes. Varios generan gran espumación y bajo nivel de irritabilidad cutánea y ocular, siendo considerados en formulaciones de champú. Poseen compatibilidad con todo tipo de tensioactivos. Su precio es tan elevado como los catiónicos, lo que limita su uso.

Fuente: Ríos F., 2014. *Elaboración propia*.

- Cabe mencionar que existen otros tipos de tensioactivos que se los agrupa **por poseer una característica excepcional**:
 - a. **Tensioactivos siliconados**, de carácter hidrófobo con aplicación en farmacia como agentes antiflatulentos y son inertes desde una perspectiva biológica.
 - b. **Tensioactivos fluorados**, obtenidos tras reemplazar un hidrógeno por átomos de flúor, lo que incrementa el carácter hidrófobo y reduce la reactividad química.
 - c. **Tensioactivos poliméricos**, constan de dos tipos de configuración de base, el tipo bloque (con zonas hidrofílicas y lipofílicas bien definidas) y el tipo injerto (polímero con eslabones lipófilos susceptibles a aceptar un grupo hidrofílico, posee propiedades coloidales).
 - d. **Biotensioactivos**, se trata de moléculas biológicas, con propiedades surfactantes sintetizadas sobre superficies vivas, principalmente de células microbianas, o excretados al medio extracelular. Se caracterizan por ser menos tóxicos, presentar mayor biodegradabilidad que los de origen sintético, y tienen una mejor compatibilidad con el ambiente⁷. Poseen potencial uso en el rubro médico y veterinario debido a sus propiedades antibacterianas, antimicóticas, antivirales e incluso antitumorales⁶.
- Los tensioactivos también pueden ser clasificados **según su origen** en sintéticos y naturales, teniendo en consideración las fuentes de las que se obtienen **Anexo 1**^{8, 9}.
 - a. **Tensioactivos sintéticos**, se clasifican en función a su carga como aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfóteros (ya descritos en la **Tabla 1**). Los tensioactivos de tipo sintético tienen un mayor grado de aplicación debido a su alta productividad en el proceso de fabricación, el control estricto sobre su composición y una mayor vida útil de almacenamiento.

b. Tensioactivos naturales son compuestos biológicos originados a partir de distintos materiales de desecho, incluidas las fuentes animales y vegetales. Existen muchos productos vegetales que son naturalmente tensioactivos a causa de la presencia de un compuesto denominado saponina⁸, la cual es considerada un biosurfactante no iónico derivado de plantas¹⁰. Con el paso de los años, se ha incrementado la atención en estas saponinas derivadas de plantas debido a sus excelentes propiedades funcionales⁹, beneficios para la salud (funciones anticancerígenas, antioxidantes, hipocolesterolémicas, hepatoprotectoras, antivirales, antifúngicas y antibacterianas, además de aumentar la permeabilidad intestinal e interactuar con los ácidos biliares)¹¹ y su seguridad ambiental, asimismo, son menos tóxicos, más biodegradables y más renovables, además de ser ecológicamente más adaptables que las de tipo sintético.

2.2 Saponinas

Las saponinas, metabolitos secundarios¹², consisten en aglicones policíclicos unidos mediante enlaces glucosídicos a una o más cadenas laterales de azúcar **Figura 1**. Estructuralmente, las saponinas son complejos anfipáticos de glucósidos, esteroides y triterpenoides¹³.

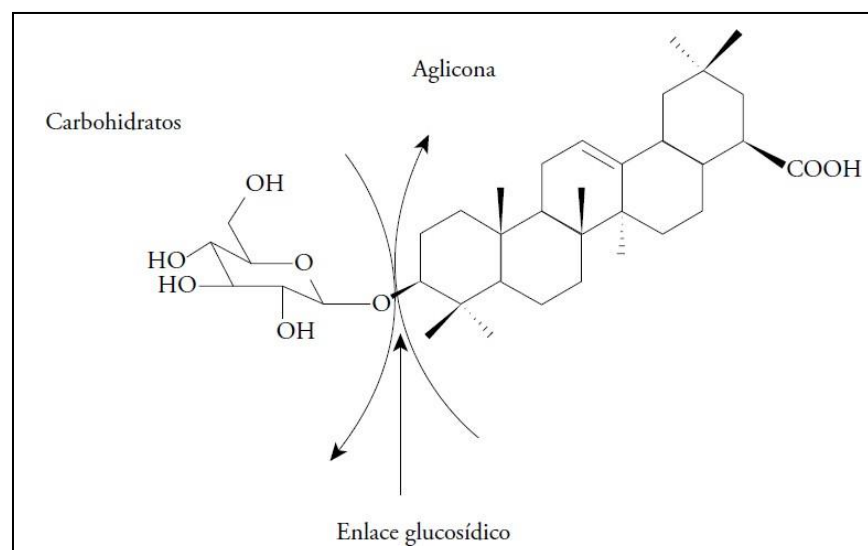


Figura 1. Estructura de una saponina. Se indica el enlace glucosídico entre la aglicona y un glucósido. **Fuente:** Ahumada A.; 2016.

La parte de aglicona, denominada también genina o sapogenina es un esteroide (C27) o un triterpeno (C30)⁹. Las saponinas esteroides pueden subdividirse en furostanol o spirostanol, mientras que algunos autores sugirieron una subdivisión adicional del triterpeno y las saponinas esteroides en dieciséis subclases. Cabe agregar que las saponinas pueden ser ácidas dependiendo de la presencia del grupo ácido carboxílico en las partes de aglicona o azúcar. La capacidad espumante de las saponinas es debido a la combinación de una sapogenina hidrofóbica (soluble en grasa) y una parte de azúcar hidrofílica (soluble en agua). El número de cadenas de sacáridos unidos a las geninas varía, así como la longitud de cada cadena. La longitud de la cadena puede constar de 1 a 11 residuos de azúcar, ya sea lineal o ramificada. Todas las saponinas tienen mínimo una cadena de azúcar unida a la aglicona y de ese modo se clasifican como mono, di o tridesmosídicas o denominadas también mono, di o trideglicosiladas (en relación al número de cadenas de sacárido unidas a la aglicona). Se denomina saponina monodesmosídica si se trata de una sola cadena de azúcar unida por enlace éter al C-3 de la aglicona; mientras que, si son dos cadenas de azúcar, usualmente unidas a través de un enlace de éster (acil glucósido) en C-28 (saponinas triterpénicas) o enlace éter en C-26 (saponinas de furostanol), se conocen como saponinas bidesmosídicas; y existen aquellas que tienen tres cadenas de azúcar conocidas como tridesmosídicas.

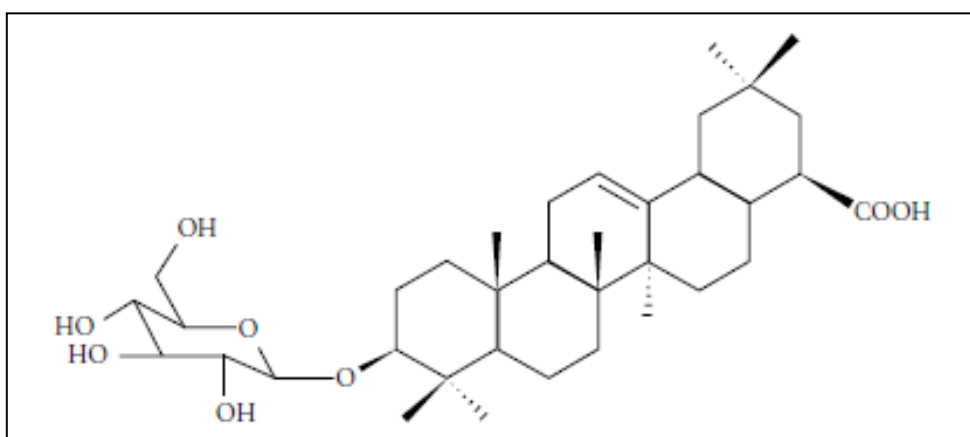


Figura 2. Estructura de una saponina monoglicosilada: ácido 3-O-β-D-glucopiranosil oleanólico. **Fuente:** Ahumada A.; 2016.

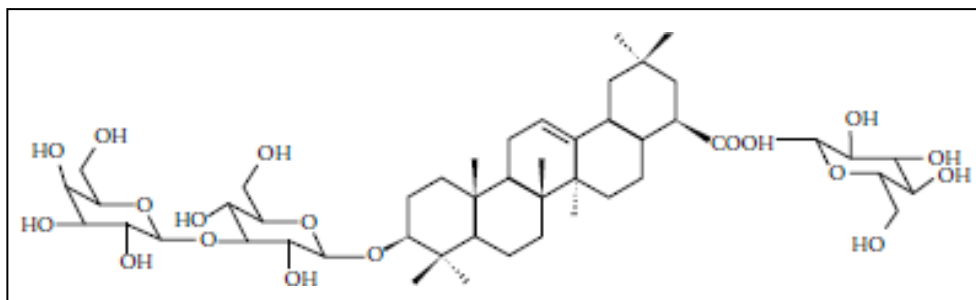


Figura 3 . Estructura de una saponina diglicosilada: 3-O- β -D-Glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -L-galactopiranosil-hederagenina 28-O- β -D-glucopiranosil ester. **Fuente:** Ahumada A.; 2016.

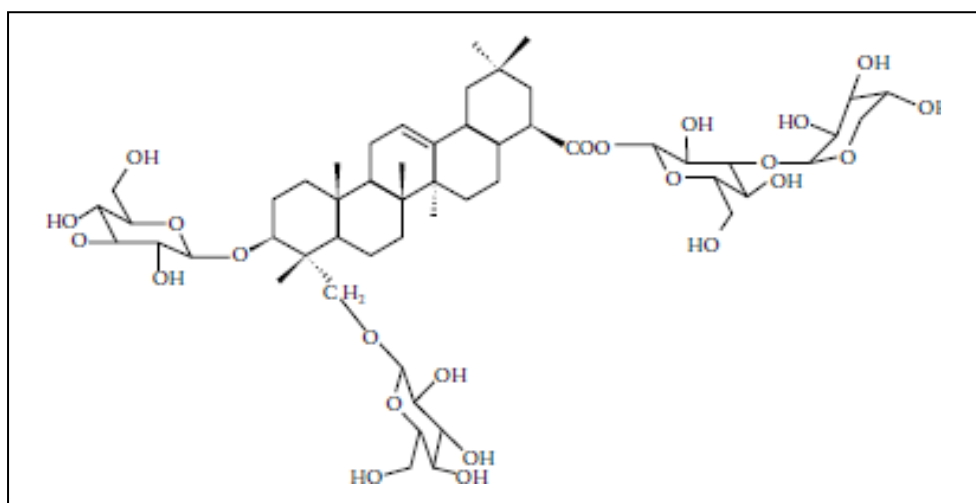


Figura 4 . Estructura de una saponina triglicosilada: ácido 3,23-bis [(O- β -D-glucopiranosil) oxi] olean-12-en-28-oico-28-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosilester. **Fuente:** Ahumada A.; 2016.

Por lo general, las saponinas en su mayor parte tienen cadenas de azúcares cortas y a menudo no ramificadas que contienen de 2–5 residuos de monosacáridos. Los restos monosacáridos más frecuentes en las plantas son D - glucosa (Gluc), D -galactosa (Gal), D-ácido glucorónico (GlucA), D-ácido galalactónico (GalA), L-ramnosa (Rha), L-arabinosa (Ara), D -xilosa (Xyl) y D - fucosa (Fuc), mientras que las saponinas de organismos marinos a menudo contienen D-quinovosa (Qui), glucosa, Ara, GlucA y Xyl unidos a la aglicona. La configuración de los enlaces interglucosídicos suele ser α y β , y el monosacárido puede estar en forma de piranosa o furanosa¹³.

En cuanto a la estabilidad térmica de las saponinas, estas resisten temperaturas superiores a 150°C e inferiores a 400°C, temperatura en que se empieza el proceso de carbonización de la molécula. No soportan cambios bruscos de pH, valores muy ácidos o básicos pues estos pueden provocar la ruptura de los enlaces O-glucosídicos ¹².

Las saponinas cuentan con una alta actividad superficial en virtud a la presencia de un grupo polar (azúcar) y otro apolar (esteroide o triterpeno), posibilitando ser utilizadas como detergentes naturales, agentes estabilizantes y emulsificadores en productos de limpieza y cosméticos¹².

2.2.1 Fuentes de obtención de saponinas

En complemento a lo mencionado anteriormente, las saponinas son consideradas surfactantes naturales las cuales son obtenidas de diversas fuentes y poseen aplicación en diferentes áreas industriales como se presenta líneas abajo.

Como fuentes de saponinas triterpenoides tenemos a *Quillaja saponaria*, sus extractos contienen más de 100 saponinas triterpenoides cuya estructura base es el ácido triterpenoide quiláico hidrófobo conocido como sapogenina, y los restos hidrofílicos de azúcar se unen en dos posiciones: di- o trisacárido en C3 y oligosacárido en C28; siendo la corteza de este árbol usado como champú durante cientos de años^{14, 15}. Además se cree que su uso externo sirve para calmar la irritación de la piel y el cuero cabelludo, tratar la caspa y la úlcera de la piel, ya que es un limpiador suave¹⁶. Las propiedades espumantes de la corteza fueron reconocidas por primera vez por la población indígena de Chile quienes utilizaban extractos de la corteza para lavar sus ropas y cabellos. En la actualidad es ampliamente utilizada en muchas industrias, incluyendo a productos de cuidado personal, vacunas y emulsificantes naturales en alimentos⁹.

Asimismo, se conoce otras fuentes naturales de saponinas, entre ellas a *Saponaria officinalis*, nativa de Europa y del oeste al centro de Asia, cultivada en muchos países alrededor del mundo; su rizoma contiene grandes cantidades de saponinas las cuales generan abundante espuma cuando se extraen con agua. *Sapindus mukorossi*, conocida como Ritha, se encuentra distribuida en regiones tropicales y subtropicales de Asia, sus frutos son el mayor recurso de saponinas con aplicación en la industria, cobrando interés el empleo del extracto del pericarpio (epicarpio, mesocarpio y endocarpio) como ingrediente de espuma estabilizadora y agente emulsionante en limpiadores, champús naturales y cosméticos. Por otra parte, estudios experimentales del uso de soluciones de surfactantes naturales de *Sapindus mukorossi*, indicaron que estas soluciones pueden tratar suelos contaminados con compuestos como naftaleno y hexaclorobenceno¹⁷. *Sapindus saponaria*, árbol nativo de Brasil, produce una gran cantidad de frutos pequeños anualmente los cuales son utilizados en América, Brasil y la India en la manufactura de jabones y detergente para ropa; se conoce que esta planta es utilizada como un sustituto del jabón por personas en los trópicos, para procesos de lavado y tratamiento de lesiones de la piel causados por hongos⁹. La cascarilla de la quinoa *Chenopodium quinoa*, antes considerada un producto “merma”, es actualmente aprovechada por su contenido de saponinas, en este sentido la valorización de la saponina de la quinua para fines industriales orientados al sector cosmético plantea una solución al problema medioambiental ya que es una forma de aprovechamiento sostenible de residuos. En el **Anexo 2** se presenta un cuadro con diferentes fuentes vegetales de saponinas y sus potenciales usos¹⁸.

2.2.2 Métodos de extracción de saponinas

El primer paso para el procesamiento de las saponinas presupone ser extraídas de la matriz de la planta. Además, es importante la elección del disolvente de extracción, las condiciones de extracción tales como temperatura, pH, entre otras; asimismo las propiedades del material de

obtención como composición y tamaño de partícula, todo lo antes mencionado en conjunto determinan la eficiencia del proceso de extracción¹³.

- Métodos de extracción convencionales

Dentro de los pasos previos incluye el secado, reducción de tamaño de partícula (para aumentar la eficiencia de transferencia de masa en la extracción) y desengrasado (previo o posterior a la extracción de saponinas, con solventes lipofílicos como éter de petróleo o n-hexano). La mayoría de las extracciones se realizan sobre material vegetal en polvo usando metanol (MeOH), etanol (EtOH), agua o alcohol-agua como disolventes de extracción. Estos extractos se disuelven o suspenden en agua y se agitan con n-butanol saturado con agua. Las alícuotas de n-butanol se mezclan en una sola solución y el líquido se elimina obteniéndose un extracto de saponina en bruto. Adicionalmente, se puede optar por la etapa de precipitación con dietil éter o acetona o incluir una etapa de diálisis con el fin de eliminar pequeñas moléculas solubles en agua tales como los azúcares¹³. Cabe mencionar que la extracción convencional se basa en la solubilidad de las materias vegetales en un disolvente, por ello es necesario utilizar gran volumen de solvente para extraer el soluto deseado, aunque en ocasiones se complementa con temperatura elevada por calentamiento o agitación mecánica¹⁹.

Diversas investigaciones describen métodos de extracción empleados con el fin de obtener saponinas es así que para la extracción de dichos metabolitos a partir de polvo de raíces secas de *Aralia decaisneana*, se empleó 5 Kg de materia prima, seguida de una triple extracción con EtOH-H₂O (7:3) bajo reflujo; dicho extracto se concentró bajo presión reducida dejando una goma de color marrón rojizo de 360 g²⁰. Para la extracción de saponinas a partir de polvo de raíces secas de *Panax ginseng* se llevó a cabo una triple extracción con 7,2 L de solución hidroalcohólica al 90% por 45 min, luego se filtró y concentró para

seguidamente diluirla con agua desionizada y separarla usando una columna de resina macroporosa de 0,6 L; luego, se eluyó los ginsenósidos con solución hidroalcohólica al 70% y se determinó la concentración de estos por UV ²¹. Se realizó un estudio comparativo de metodologías de extracción de saponinas de *Melissa officinalis* “toronjil”, en el cual el primer método consistió en emplear una muestra sin desengrasar y el segundo método, una muestra desengrasada con cloroformo; el porcentaje de extracción de saponinas fue de 3,90% y 2,40%, respectivamente²².

- Métodos de extracción ecológicos

Comparados al método tradicional, los métodos ecológicos hacen uso de tecnologías verdes que implican síntesis química menos peligrosa, siendo los insumos químicos involucrados más seguros; asimismo, involucran procesos de mayor eficiencia energética, utilizan materia prima renovable y con ello participan en la prevención de la contaminación¹⁹. Entre otras ventajas se tiene que el tiempo de extracción y el uso de solventes es menor, además de obtener una alta tasa de extracción. Por lo antes mencionado, las investigaciones recientes se enfocan en la búsqueda de tecnologías que mejoren la eficiencia de extracción al reducir el tiempo de extracción y el consumo de solventes / residuos sin comprometer la calidad de la muestra (evitando su degradación). Existe la extracción asistida por microondas y ultrasonido, dichos procesos implican la interrupción de la estructura celular interna y la liberación del producto intracelular para facilitar la transferencia de masa, que se logra mediante el calentamiento rápido y selectivo de la materia prima en un solvente que es (parcialmente) diáfano a la energía de microondas (en extracciones de microondas) y los efectos mecánicos de las cavitaciones acústicas (en extracciones ultrasónicas). A continuación se presentan algunos de los métodos modernos de extracción de saponinas¹³:

- a. **Extracción ultrasónica:** se realiza en un baño ultrasónico que permite la variación de amplitud y temperatura. La frecuencia de trabajo se establece en un cierto valor, por ejemplo 33 KHz. Una cantidad dada de material (p.e. 4 g) se extrae con un volumen dado (p.e. 100 mL) de EtOH al 95% (v / v) en un flotador cónico y se sonica durante un tiempo determinado (p. e. 15 min), a temperatura ambiente. Después de la extracción, el contenido se filtra y se evapora a sequedad.
- b. **Extracción de líquido supercrítico:** se hace uso de un extractor de líquido supercrítico (p.e. Hua'an SFE Instrument Company). Las muestras (p.e. 80 g) se extraen con dióxido de carbono y EtOH (p.e. 60 mL) como agente de arrastre bajo una presión de trabajo (p.e. 25 MPa) y una temperatura de 55 °C. Se establece la velocidad de flujo (p.e. 30 L/ h) y la temperatura de separación (p.e. 37 ° C).
- c. **Extracción asistida por microondas:** el uso de energía de microondas permite una rápida disolución, secado, digestión ácida y extracción de compuestos orgánicos de matrices complejas. El microondas calienta el solvente o la mezcla de solventes directamente y la interacción directa de las microondas con las moléculas de agua libres presentes en las glándulas y los sistemas vasculares producen la ruptura posterior del tejido vegetal y la liberación de componentes en el solvente orgánico. Sus principales ventajas son la reducción del volumen de disolvente, menor consumo de tiempo y el aumento del rendimiento de la muestra. Por tanto, MAE (Microwase-assissted extraction) proporciona un método alternativo a los métodos de extracción convencionales en plantas, este se realiza en un recipiente cerrado equipado con un sensor de temperatura y a una potencia máxima del horno de 800 W. El polvo desengrasado (p.e. 4 g) se mezcla con un disolvente de elección (MeOH, EtOH o EtOH – H₂O 7: 3, n -butanol o n -butanol – agua 1: 1, 16 mL) en viales cerrados de 20mL irradiados a 2.450 MHz durante

10 o 20 min. La temperatura del disolvente se mantiene constante a 60 °C sumergido en un recipiente que contiene disolvente, se usa doce recipientes de muestra a la vez siendo posible monitorizar la presión y temperatura, en un rotor MPR-600 / 12S. Después de enfriar a temperatura ambiente, el extracto se recoge y almacena hasta su uso.

Entre las investigaciones ya realizadas se tiene evidencia de la extracción de saponinas a partir de raíces de *Paramignya trimera* mediante método de extracción asistida por microondas (MAE), los parámetros óptimos establecidos fueron 100% de metanol, 40 min de tiempo de extracción y una proporción de 100 mL/g (solvente: muestra)²³. De *Sapindus emarginatus* se ha realizado la extracción de saponinas asistida por ultrasonido obteniendo la cantidad máxima de saponina a partir de un tamaño de partícula de 315 µm, tiempo de sonicación de 60 minutos a 60°C. El rendimiento se evaluó por HPLC y la saponina con mayor concentración se utilizó como ingrediente principal de la formulación de un champú natural para cabello²⁴.

La **Figura 5** da a conocer que los investigadores están más inclinados a la selección de las técnicas de extracción convencionales (70%), en comparación con las tecnologías verdes (30%), a pesar de que las técnicas verdes usan un mínimo de solvente. Esta elección de métodos generalmente se basa en el enfoque de investigación de los estudios que se busca realizar. Es así que, para el aislamiento de nuevas saponinas y estudios de propiedades farmacéuticas, el 78% y el 91% de los trabajos anteriores han utilizado los métodos de extracción convencionales; sin embargo, en trabajos centrados en estudios de cuantificación y optimización, el 58% y el 67% de los trabajos anteriores han seleccionado tecnologías de extracción ecológica, siendo la extracción asistida por ultrasonido, la tecnología de extracción verde más seleccionada en los estudios de cuantificación, lo que implica su capacidad y eficacia para obtener rendimientos de saponina significativos¹⁹.

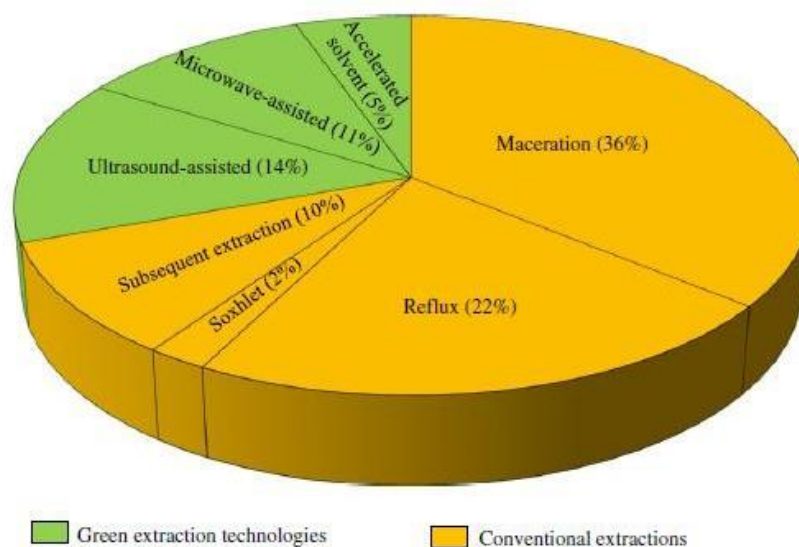


Figura 5. Técnicas de extracción actuales utilizadas en la extracción de saponinas de materiales vegetales. **Fuente:** Cheok C.; 2014.

2.2.3 Métodos de identificación de saponinas

En el análisis cualitativo de saponinas, existen muchas reacciones de color para detectar su presencia en un extracto, entre ellas destacan la Reacción de Liebermann Burchard en la que las saponinas triterpenoides dan color rosado o púrpura y las esteroidales dan azul-verdoso, la Reacción de Salkowsky en la que se observa coloración amarillo a rojo sangre, la Reacción de Ácido tricloroacético la cual diferencia esteroides y triterpenos tetracíclicos de los triterpenos pentacíclicos por los cambios de coloración a la temperatura a 60°C y a partir 110°C respectivamente; entre otras²⁵.

La cromatografía en capa fina también puede ser de utilidad, las placas cromatográficas (generalmente gel de sílice) tienen la ventaja de poder usarse tanto para el análisis de saponinas puras como para los extractos crudos, además tienen un bajo costo, son fáciles de usar y no requieren un equipo específico. Debido a que en las plantas las saponinas están acompañadas por compuestos fuertemente polares como azúcares y compuestos fenólicos coloreados, no se pueden cristalizar fácilmente y con frecuencia son higroscópicas, esto explica el por qué la caracterización de saponinas puras es bastante desafiante²⁶.

Antes de la cuantificación de las saponinas totales de una fuente vegetal, se debe llevar a cabo un procedimiento simple para evaluar la presencia de saponinas el cual consiste en colocar el material vegetal en un tubo de ensayo lleno de agua destilada y agitarlo vigorosamente durante 2 minutos. La aparición de espuma estable y persistente en la superficie del líquido indicará la presencia de saponinas²⁷. Asimismo, la prueba de determinación de nivel de espuma aplicable a agentes tensioactivos se puede fortalecer teniendo en cuenta el método planteado en la norma INEN 0831, el cual consiste en medir la cantidad de espuma que se forma tras agitar una solución de tensioactivo en agua; se debe ser cuidadoso con las condiciones de preparación de dicha solución, así como la agitación y la medición de la espuma para que el método se considere reproducible²⁸.

En complemento a lo mencionado, se conoce que una de las propiedades de las saponinas es su habilidad de detergencia, sin embargo, desde años anteriores ha sido difícil estandarizar dicha evaluación, la dificultad está asociada al intento de estandarizar un aceite (sustrato controlado) que represente la suciedad, así como diseñar un procedimiento estándar de eliminación de dicha suciedad y complementar ello con el desarrollo de una metodología analítica capaz de medir cambios sutiles en el sustrato sucio. En vista de ello se ha desarrollado un procedimiento analítico simple y consistente descrito por Thompson *et-al.*²⁹, el cual consiste en trabajar con muestras de cabello que son tratadas con una solución de sebo (la cual debe constar de una variedad de grupos funcionales que en conjunto asemejen a la composición del sebo real: triglicéridos (35%), ácidos grasos (30%), ceras, hidrocarburos (15%), ésteres (20%)). Se dividen las muestras sucias antes del tratamiento con surfactante o prototipo de champú con el fin de compensar la variación entre los niveles de suciedad mediante el uso de una muestra sucia no tratada como un control interno; asimismo, esto permite la determinación de los niveles residuales de sebo en relación con el control no lavado. Se ha desarrollado una versión ligeramente modificada del método desarrollado por Thompson³⁰ que es más accesible de desarrollar en un laboratorio con equipo básico; cabe hacer mención que en dicho

estudio la fórmula real para el sebo artificial utilizado consiste en aceite de oliva 20%, aceite de coco 15%, ácido esteárico 15%, ácido oleico 15%, cera de parafina 15% y colesterol 20%³¹. Este estudio, para el proceso de lavado de cabello con solución detergente, refiere el uso del Método Finger descrito por Thompson²⁹ pues este método de lavado con los dedos es considerado la técnica más precisa que imita de manera real el proceso de lavado de cabello de modo que, la solución prueba se aplica y agita de manera consistente tal cual el uso real del consumidor.

Según lo descrito líneas anteriores, las saponinas se pueden valorar por métodos físicos como el llamado Test Afrosimétrico o de espuma, pero además es posible la evaluación por métodos biológicos como el Índice Hemolítico y el Índice del Pez³².

2.2.4 Métodos de cuantificación de saponinas

La cuantificación de las saponinas vegetales se realiza generalmente por métodos espectrofotométricos y cromatográficos. La diferencia entre la expresión cuantitativa de dichos métodos es que los espectrofotométricos dan un valor de saponina total mientras que los cromatográficos cuantifican el compuesto de saponina específico.¹⁸ Para la cuantificación de saponinas en plantas se utiliza el método colorimétrico conocido como el ensayo de vainillina – ácido sulfúrico, el cual se fundamenta en la reacción entre saponinas oxidadas (por acción del ácido sulfúrico) con la vainillina, dando un color púrpura rojizo medido a longitudes de onda de 473 a 560 nm por espectrofotometría³³.

La técnica de HPLC es la más empleada, puesto que se aplica muy bien a muestras no volátiles y de polaridad variable e incluye a las altamente polares, razón por lo que es aplicable para sapogeninas como también para saponinas. Para dichas separaciones se usa una fase estacionaria normal NP (sílica gel) o una fase reversa RP (C18, C8), siendo la preferida la C18. Debido a que las saponinas o sus geninas no poseen grupos cromóforos, se

detecta usando UV a muy baja longitud de onda o usando un detector de índice de refracción. La dificultad para visualizar estas moléculas se ha resuelto con el desarrollo de técnicas acopladas del HPLC al MS (espectrometría masas) y al RMN (Resonancia Magnética Nuclear). Para culminar con la identificación de los compuestos aislados, deben determinarse y confirmarse por punto de fusión, rotación específica, infrarrojo, resonancia magnética y espectrometría de masas²⁵.

2.3 Aplicaciones de los tensioactivos

Las propiedades fisicoquímicas de las soluciones de tensioactivos, como la disminución de la tensión superficial e interfacial, formación de espuma, aumento de la humectabilidad y las propiedades relacionadas con las asociaciones moleculares de formación de micelas y solubilización de los componentes en el interior de las micelas, confieren a los tensioactivos numerosas aplicaciones³⁴.

- **Detergentes:** se caracterizan por su capacidad de lavar y es considerada una de las aplicaciones principales de los tensioactivos. Los detergentes comerciales son en su mayoría mezclas complejas de tensioactivos con otros aditivos.
- **Higiene corporal:** presentes en la formulación de productos cosméticos, principalmente en formulaciones para el lavado del cabello como los champús. En estas fórmulas, los insumos esenciales son los tensioactivos aniónicos, el LESS y el lauril sulfato aniónico. Adicionalmente se utilizan tensioactivos no iónicos como la dietanolamida de ácidos grasos de coco, para mejorar la viscosidad y espumación; o tensioactivos anfóteros, entre ellos, las alquilbetaínas que suprimen el exceso de electricidad estática.
- **Alimentaria:** en la industria alimentaria se utilizan proteínas con propiedades tensioactivas, como la lecitina y polímeros alimentarios; estos emulgentes son empleados en la elaboración de diversos productos tales como la mayonesa, cacao soluble, chocolates, cremas de chocolate, salsas con mostaza, margarinas y helados entre otros.

- **Pinturas, lacas y tintes:** dentro de ellos están los barnices como emulsiones de aceite o cera en agua. Asimismo, las pinturas en emulsiones están constituidas por un vehículo, una fase líquida, pigmentos y un diluyente volátil que facilite su aplicación.
- **Agricultura:** El uso de surfactantes o tensioactivos permite una aplicación uniforme del producto destinado a ser rociado sobre la superficie de las hojas, incrementando la retención del producto, ayudando a la penetración y previniendo la formación de depósitos del insecticida sobre las hojas por cristalización, además reduce la pérdida del producto por las lluvias².
- **Petróleo y derivados:** las emulsiones de betún asfáltico son utilizadas en la elaboración de carreteras, tejados y suelos.

La **Tabla 2** presenta los diversos campos de aplicación industrial y los tensioactivos mayormente usados³⁴.

Tabla 2. Campos de aplicación de los tensioactivos en la industria

TIPO DE INDUSTRIA / TENSIOACTIVOS	CAMPO DE APLICACIÓN
ALIMENTARIA	
Acilgliceroles	- Emulsionantes
Esteres de sorbitano	- Humectantes
Copolímeros de óxido de etileno-propileno	- Antiespumantes
Alquilsulfatos	- Limpieza de instalaciones
Ésteres de poliglicol	
CURTIDOS	
Nonilfenoles polietoxilados	- Humectación/penetración
Alcoholes grasos polietoxilados	- Desengrase
Monoésteres de ácidos grasos sulfatados	- Curtición
Alquilsulfatos	- Tintura
Alquilnaftalenosulfatos, Lignin-sulfafonatos,	- Engrase
Aceites saturados	- Pastas de pigmento
PINTURAS, LACAS Y TINTES	
Condensados de naftalensulfonato y formaldehído	- Dispersión de pigmentos
Alquilsulfato, Dialquilsulfoccinato sódico,	- Modificadores de fluidez
Alcoholes grasos polietoxilados, Aminas polietoxiladas	- Emulsionantes de resinas

Fuente: Ortega M; 2009.

Tabla 2. Campos de aplicación de los tensioactivos en la industria. (Continuación)

TIPO DE INDUSTRIA / TENSIOACTIVOS	CAMPO DE APLICACIÓN
AGRICULTURA Alquilbenceno sulfonatos Ésteres fosfatados, poliglicoles, aceites sulfatados.	- Emulsificación de plaguicidas y herbicidas - Humectación y dispersión - Emulsiones
COSMÉTICA Ésteres de poliglicol Óxidos de amina Alcoholes grasos polietoxilados Alquilpoliéter sulfatos, Alcanolamidas, Alquilbetainas, diaquilsulfocinatos	- Emulsiones de cremas cosméticas - Champúes, geles - Jabones de tocador - Solubilizante de perfumes - Emulsionantes para aceites esenciales
DETERGENTES Alquilbenceno sulfonatos Olefin-sulfonatos Parafin-sulfonatos Sulfatos de alcoholes grasos polietoxilados Alquil poliéter sulfatos Óxidos de amina, Alquilfenoles polietoxilados, Alcanolamidas, Sulfonatos de ácidos grasos, Sales de aminio cuaternario.	- Detergentes en polvo - Detergentes líquidos - Estabilizadores de espuma - Productos limpieza de superficies duras - Sanitarios - Productos lavavajillas - Limpiadores de alfombras y tapicerías
PAPELERA Ésteres de poliglicoles Alcoholes grasos polietoxielados Polipropilén-glicoles, Aminas polietoxiladas, nonilfenoles polietoxilados	- Agentes humectantes de la pulpa de papel - Eliminación de espuma de la pulpa - Emulsionantes de ceras - Reutilización del papel
PETRÓLEO Y DERIVADOS, ESTERES DE POLIGLICOL Alquilpoliéter sulfatos Lignino-sulfonatos Alcanolamidas Imidazolinás, Poliglicoles, ésteres sulfonados, Alquilbenceno sulfonatos.	- Solubilizantes del agua e inhibidores de corrosión - Ruptura de emulsiones - Dispersantes - Recuperación del petróleo - Eliminación de mareas negras

Fuente: Ortega M; 2009.

La fabricación mundial de tensioactivos va en aumento cada año. En el 2012 el mercado mundial de tensioactivos originó 27 040 millones de dólares, en el que el 31 % del consumo total se presentó en Europa, 28% por Norteamérica y 17% China. Asimismo, de la totalidad de tensioactivos producido, se empleó el 60% en detergentes domésticos, 30% en aplicaciones técnicas e industriales, 7% a limpieza industrial y 6% en artículos de higiene corporal. Los tensioactivos aniónicos y no iónicos representa el 85% de la demanda total. Dentro de los fabricantes de tensioactivos resaltan, AkzoNobel N.V, BASF SE, P&G Chemical, Stepan Company y The Down Chemical Company⁶.

Actualmente, las fuentes de tensioactivos petroquímicas, en mayor parte, son de origen petroquímico; sin embargo, el interés por la búsqueda de fuentes de surfactantes de origen natural ha ido incrementando. Esto se encuentra relacionado a la sostenibilidad, el problema probablemente más importante para la industria. Las empresas continúan diseñando estrategias de sostenibilidad medio ambiental y a medida que desarrollan más ingredientes basados en fuentes naturales, crece la necesidad de asegurar su suministro de forma sostenible. La utilización de ingredientes naturales es la tendencia principal si se habla de la industria cosmética y el mercado se anuncia prometedor. Un ejemplo de ello es la adquisición de Chile Botanics, productor de extractos vegetales entre ellos extracto de *Quillaja saponaria*, por uno de los laboratorios más importantes en Europa, Naturex. Aunque algunas saponinas como las del quillay son utilizadas desde tiempo de forma artesanal e industrial, la extracción de saponinas a partir de otras fuentes, como la quinua, es aún un campo nuevo en la industria cosmética. Se han podido identificar dos empresas que están desarrollando proyectos innovadores con este ingrediente natural tales como Quinoa Brasil y Chimex del gigantesco grupo L'Oreal de Francia¹⁸.

Uno de los ámbitos de aplicación de los tensioactivos en la industria cosmética es la fabricación de champús. Los champús pueden dañar el cabello por abrasión, erosión y deformación durante el proceso del lavado, cuando los pelos se frotan entre sí, cuando se deforman al doblarse, torcerse o estirarse mientras se enjabona, al peinarse o secarse con una toalla e incluso al secarlo. Los champús pueden también disolver o eliminar lentamente los lípidos estructurales y el material proteico del cabello³⁵. Específicamente se hace referencia a los surfactantes o tensioactivos como los causantes del daño debido a la formación de complejos micelares con las proteínas del cabello generando así su disolución, por tanto, cuanto mayor sea la densidad de carga del agregado de surfactante, mayor es el daño causado por disolución de proteínas⁴.

El tensioactivo sintético utilizado principalmente para la fabricación de champú es el lauril sulfato y sus dos variantes son lauril sulfato de sodio o SLS y el lauril éter sulfato sódico o SLES. En cuanto al SLS, este tiene mayores propiedades abrasivas para la piel en comparación al SLES; sin embargo, este último podría contener sustancias que han sido identificadas como cancerígenas. Asimismo, se demostró que en la producción de los tensioactivos polietoxilados se forma el 1,4-dioxano como subproducto tóxico y carcinógeno debido a la reacción de alcoholes grasos con óxido de etileno, polimerizándose³.

Por lo expuesto, el uso de champús que contengan ingredientes abrasivos, como es el caso de algunos tensioactivos, a largo plazo causa daño capilar cuantificable mediante el Método Lowry; sin embargo, no es adecuado utilizar este método debido a que tiene muchas sustancias interferentes, el empleo de varios detergentes distintos al lauril sulfato de sodio pueden generar error en la medición, ya que dan determinada absorbancia a menos de 300 nm, siendo la medición a 275 nm, según este método. Por tanto, la evaluación de otros tensioactivos aumenta la absorbancia de la solución blanco o producen precipitados que dificultan el análisis espectrofotométrico⁴. Una alternativa a este método es la determinación del daño capilar por espectro UV-vis, en este método las muestras de cabello son sumergidas en soluciones acuosas de surfactantes usualmente presentes en las formulaciones de champús, bajo condiciones que recrean una ducha (38°C, agitación constante). Se miden las absorbancias de las soluciones tensioactivas antes y después de que entren en contacto con las muestras de cabello de 64h a 72h. La intensidad de color de la solución es correlativa a la cantidad de proteínas cuantificada y por ende a un mayor daño del cabello. Para la medición espectrofotométrica, usar el valor de una longitud de onda causa un error en la estimación del daño del cabello generado por el surfactante; por lo que se recomienda la integración del espectro en un rango de 490 nm - 650 nm⁴.

2.4 Composición del cabello

Debido al impacto de los tensioactivos sobre el cabello, es necesario conocer la composición del mismo. El cabello humano es un tejido complejo que consta de varios componentes morfológicos y químicos. La fibra capilar está constituida morfológicamente por tres a cuatro estructuras **Figura 6**, una cubierta protectora gruesa compuesta por cutículas o escamas; estas rodean la corteza, la cual contiene la mayor parte de la masa de fibra. La corteza consiste en células con forma de husillo que están alineadas paralelas al eje de la fibra, dichas células contienen muchas de las proteínas fibrosas del cabello. Los cabellos más gruesos se caracterizan por contener una o más regiones porosas sueltas llamadas médulas, ubicadas cerca al centro de la fibra. La cuarta unidad estructural importante es el complejo de membrana celular (CMC), el "pegamento" que une o mantiene a todas las células juntas³⁵.

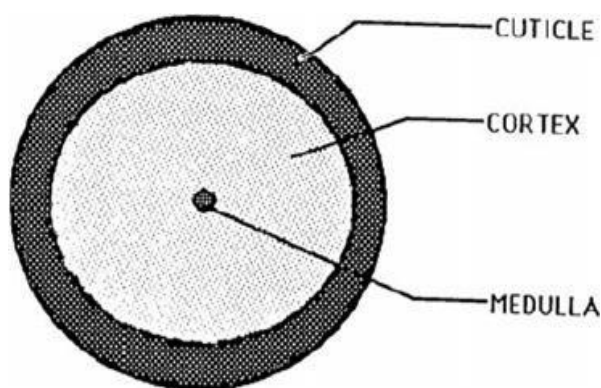


Figura 6. Diagrama esquemático de una sección transversal de una fibra capilar humana. **Fuente:** Robbins C; 2012

Los pigmentos de melanina, pigmentos capilares, se clasifican en dos tipos, la eumelanina (marrón-negro) y la feomelanina (amarillo-rojo). Las eumelaninas (conocidas como "melaninas") son sintetizadas en los melanocitos a partir del aminoácido tirosina y la feomelanina a partir de la tirosina y cisteína, se empaquetan en melanosomas en los melanocitos **Figura 7**.

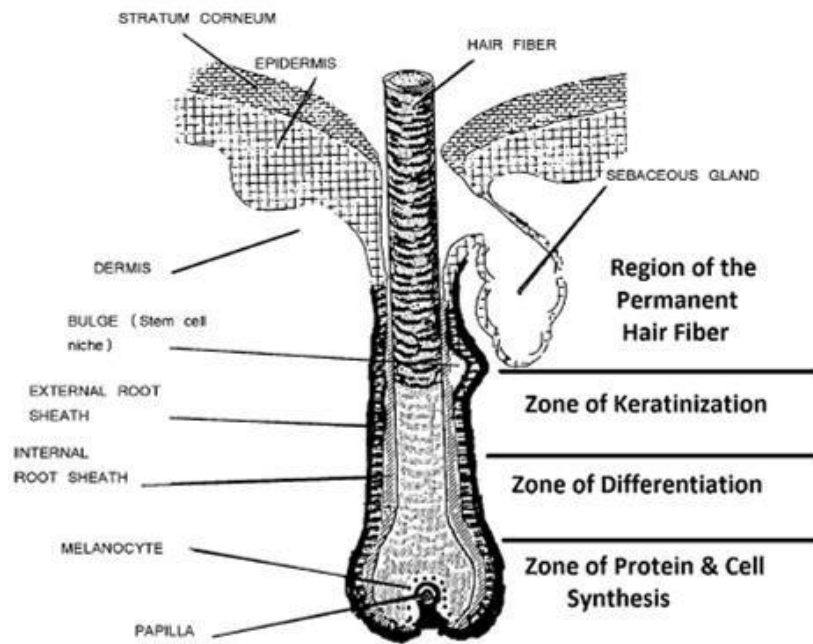


Figura 7. Unidad pilosebácea con una fibra capilar en su folículo y zonas de proteína, síntesis celular, diferenciación, queratinización y región de la fibra capilar permanente a medida que la fibra emerge a través del cuero cabelludo.
Fuente: Robbins; 2012.

Los principales pigmentos del cabello humano son las melaninas marrón-negro mientras que las feomelaninas son menos prevalentes. El tamaño de los gránulos de melanina, además del contenido total de melanina y el tipo de melanina determinan el color del cabello llegando a plantear como regla general que el cabello negro contiene principalmente gránulos grandes de eumelanina, el cabello marrón medio a claro contiene gránulos de eumelanina y feomelanina, y el cabello rubio contiene principalmente gránulos de feomelanina que son más pequeños. Los datos de la **Tabla nº3** dan a conocer que el cabello negro contiene más eumelanina total que otros tipos de cabello y el cabello rojo tiene la mayor cantidad de feomelanina; el cabello castaño tiene cantidades ligeramente más altas de eumelanina que el cabello rubio y cantidades casi iguales de DHI (5,6-dihidroxiindol) y DHICA (ácido 5,6-dihidroxiindol-2-carboxílico), mientras que el cabello negro tiene más eumelanina y una mayor proporción de DHI a DHICA que el cabello castaño.

Tabla 3. Análisis de melaninas en cabello humano.según Borges *et al.*

Hair color/hair type	µg/eumelanin/mg hair			µg pheomelanin type/mg hair		
	DHI	DHICA	Total eumelanin	2-CystDOPA ^a	5-CystDOPA ^b	Total pheomelanin
Black (African Am.)	8.5	6.0	14.5			
Black (Amerindian)	9.5	5	14.5			
Black (Asian)	7.5	5	12.5			
Black (Caucasian)	4	3	7 ^{c,d}			
Black (Hispanic)	6	4	10			
Brown hair	2	2	4	75	15	90 ^{e,f}
Blonde hair	1.5	1	2.5	75	25	100 ^{e,f,g}
Red hair	1.5	0.5	2.0	650	300	950 ^{e,g}
Black hair				85	15	100 ^f

Fuente:ún Borges *et al.*; 2001.

Borges *et al.*³⁶ concluyeron que el cabello humano negro promedio contiene aproximadamente 1% de feomelanina y 99% de eumelanina mientras que el cabello castaño y rubio contiene aproximadamente 5% de feomelanina y 95% de eumelanina además de diferenciarse principalmente en la cantidad de melanina total presente y el cabello rojo contiene aproximadamente un tercio de feomelanina y dos tercios de eumelanina.

2.5 *Ullucus tuberosus*

Con respecto al objeto de estudio, la familia BASELLACEAE, caracterizada por agrupar a plantas mucilaginosas suculentas, volubles o trepadoras³⁷, consta de 4 géneros y 19 especies³⁸, de las cuales se menciona a *Anredera* (12 spp., América tropical), *Basella* (1 sp. pantropical, 1 especie africana y 3 especies de Madagascar), *Tournonia* (1 sp. de Colombia), y *Ullucus* (1 sp. Andina)³⁹. El género *Ullucus* tiene como única especie a *Ullucus tuberosus* Caldas, que a su vez posee dos subespecies: *Ullucus tuberosus* subsp. *aborigineus* y *Ullucus tuberosus* subsp. *tuberosus*. En la subespecie *aborigineus* figuran todos los ullucos silvestres, los cuales se encuentran rodeados de plantas espinosas en suelos sueltos, húmidos y de buen drenaje, o en ambientes rocosos de difícil acceso³⁷. *Ullucus tuberosus* Caldas subsp. *aborigineus* (Brüech), conocido como “olluco silvestre”, “olluco del zorro”, es una hierba carnosa, rastrera propia de la región Andina del Perú y crece entre los 2800 - 3200 m.s.n.m. en los departamentos de Cajamarca, La Libertad, Ancash, Ayacucho, Cusco y Junín⁴⁰. Por otra parte, el olluco cultivado está

constituído por decenas de cultivares correspondientes a la subespecie *tuberosus*. Las partes que posee *Ullucus tuberosus* son hojas, tallo, flores, tubérculo y raíz. El tallo puede tener cuatro variantes: ausente, tallos alargados decumbentes, tallos alargados erectos y tallos alargados rastreros. Los colores de estos tallos varían según la Tabla de la Real Sociedad Hortícola (RHS Colour Chart), pueden ser 83% de color verde-amarillento claro, 10 % rojo-grisáceo con verde-amarillento irregularmente distribuido a lo largo del tallo, 5 % verde-amarillento claro con rosado irregularmente distribuido a lo largo del tallo, y un 2 % rojo-grisáceo. En las hojas y flores, el tamaño y color de la lámina, el envés, sépalos y pétalos, forma y color de la inflorescencia varían y ayudan como indicadores taxonómicos. En cuanto a los tubérculos, estos se definen como tallos subterráneos y tienen diferente coloración que va desde el blanco-amarillento hasta el púrpura-rojizo, pasando por una gran gama de colores intermedios como el verde-amarillento, amarillo, amarillo-oscuro, amarillo-grisáceo, amarillo-anaranjado, naranja-pálido, naranja, naranja-rojizo, rojo-claro o rosado, y rojo³⁷. Referente a las propiedades de *Ullucus tuberosus*, el valor nutricional del tubérculo de ulluco (ppm, peso base seca) consiste en 118-912 ppm de carbohidrato, proteína 10-73 ppm, grasas 2-14.6 ppm, fibra 3-44 ppm, ácido ascórbico 230-1,750 ppm, Ca 30-365 ppm, Fe 7-58 ppm, P 340-2,775 ppm, riboflavina 0.2-2.2 ppm, tiamina 0.4-4.3 ppm, β -caroteno 0.7 ppm y energía 500-3,725 Kcal. Concerniente al tallo de *Ullucus tuberosus*, no existen estudios en la literatura que describan su composición pero estudios confirman la presencia de saponinas señalando que a partir del tubérculo se ha logrado aislar tres flavonoides, rutina, narcisina y kaempferol 3-O-(2'', 6''-di-O- α -L-ramno piranosil)- β -D-glucopiranoside; saponinas triterpenoide 28-O- β -D-glucopiranosil-epihederagenina y 28-O- β -D-glucopiranoside-3-O- β -D-glucopiranosil (1° \rightarrow 2')- β -D-glucopiranosil-oleonato; además que, a partir de un extracto metanólico de los tubérculos de *Ullucus tuberosus* se ha obtenido tres saponinas triterpenoides, tuberósidos A, B y C como sales de sodio y colina, estableciendo además sus estructuras en base a experimentos de 2D-RMN y FAB-MS, y confirmado con métodos químicos^{40, 41}.

De otra parte, esta planta, olluco o también llamada por los pobladores “ullukullutu”, es muy utilizada en las regiones de la sierra peruana, principalmente se han recogido testimonios de su uso en el centro poblado de Huamantanga, distrito de Huari, provincia de Huari perteneciente a la región de Ancash - Perú; los pobladores describen que se han utilizado los tallos de la planta, para lavarse el cabello. Específicamente se sabe que la subespecie utilizada por los pobladores es la *subespecie aborigineus*, es decir la silvestre. Para este uso, ellos ejercen un corte en los tallos, luego se extrae una sustancia viscosa y de color claro, que con la fricción continua adquiere una consistencia espumosa, la cual aplican sobre el cabello pues perciben que es capaz de eliminar la suciedad además de dotar con brillo y suavidad al cabello del usuario; sin embargo, no existen estudios que permitan demostrar o validar este uso.

2.6 Biocomercio

El Biocomercio hace referencia a actividades de recolección, producción, transformación y comercialización de bienes y servicios derivados de la biodiversidad nativa (recursos genéticos, especies y ecosistemas) que implica prácticas de conservación y uso sostenible, y son suscitados con criterios de sostenibilidad ambiental, social y económica⁴².

2.6.1 Principios del biocomercio

En complemento al concepto de biocomercio, la Iniciativa BioTrade de la UNCTAD, los programas y otros socios nacionales e internacionales han definido un conjunto de Principios y Criterios⁴²; es así que el Biocomercio se rige por 7 principios que a su vez implican 26 criterios para su implementación⁴³ **Anexo 3**.

2.6.2 Enfoques del Biocomercio

La iniciativa BioTrade y los programas nacionales implementaron los Principios y Criterios en base a enfoques⁴².

- **Enfoque de cadena de valor**

El presente enfoque busca la conexión entre los actores participantes de la cadena de valor, buscando el uso sostenible y la conservación de la biodiversidad así como la repartición justa de beneficios ambientales, sociales y económicos.

- **Enfoque de manejo adaptativo** (gestión adaptable)

Este enfoque coadyuva al establecimiento de prácticas sostenibles, la reconocimiento de impactos sobre especies y ecosistemas; asimismo, la mejora continua de prácticas productivas y su gestión.

- **Enfoque ecosistémico**

Para implementarlo se necesita tener una visión integrada de los aspectos sociales y ecológicos, además de las interacciones y procesos implicados. La finalidad de esta planeación es respetar las responsabilidades sociales y ambientales según el impacto generado sobre las especies, los hábitats, los ecosistemas y las comunidades locales.

2.6.3 Importancia del biocomercio

Acorde a la UNCTAD, la importancia del biocomercio radica en ser una herramienta para el desarrollo de un país y la conservación de la biodiversidad; el desarrollo del biocomercio va asociado a economías de poblaciones en extrema pobreza las cuales están ubicadas en diversos ecosistemas. Asimismo, la demanda creciente por productos naturales representa un gran potencial de aplicación de estos productos en el mercado⁴².

2.6.4 Biocomercio en Perú

Perú participó como socio nacional, a través del Programa Nacional de Promoción al Biocomercio del Perú (PNPB), aprobado el 2004 por el Consejo Nacional del Ambiente (CONAM). El PNPB tuvo como objetivo usar la diversidad biológica como opción de desarrollo para el país incentivando al mismo tiempo la conservación de los recursos biológicos. En el 2010, se creó la Comisión Nacional de Promoción de Biocomercio (CNPB), cuya mayor tarea fue la implementación de políticas, estrategias y líneas de acción para el PNPB. En el 2014, a través de la CNPB, las instituciones y actores involucrados renovaron las líneas estratégicas en proyectos de fomento y promoción del Biocomercio⁴⁴.



Figura 8. Ejes temáticos de la estrategia Nacional del Biocomercio. **Fuente:** PROMPERÚ. Biocomercio: modelo de negocio sostenible. 2014.

El Perú cuenta con áreas geográficas apropiadas biodiversas, por esta característica, el Biocomercio como modelo de negocio en el país tiene un enorme potencial. Las zonas geográficas de los bosques amazónicos (Rupa Rupa y Omagua), las zonas de la Yunga, Quechua y Suni de la sierra, y la Chala en la costa, constituyen áreas importantes en las que se ubican los nichos ecológicos indicados para las especies de la biodiversidad. En ellas, además de la riqueza natural, existe una riqueza de conocimientos colectivos tradicionales y culturales, mezcla que facilita el desarrollo del Biocomercio en el país. En estas zonas geográficas se han reconocido diez núcleos principales para el desarrollo del Biocomercio en el país; estos son la Costa y Andes del Norte, Áncash, Lima e Ica, Arequipa, Selva Norte de Ucayali, Eje Andino del Cusco, Meseta del Collao, San Martín Norte, Amazonas y Puerta Interoceánica del Sur. El Biocomercio se presenta como una opción de progreso para estos lugares más desamparados, siendo considerados en la cadenas de valor de sus regiones⁴⁴. Se conoce de la existencia de empresas peruanas que aplican el biocomercio como modelo de negocio

Tabla 4. Empresas peruanas que aplican el Biocomercio

EMPRESA	PRODUCTO	APLICACIÓN DEL BIOCOMERCIO
Amazon Health Products	Semillas de sachá inchi	Esta empresa apostó por la incorporación de pequeños agricultores que cultivaban maíz en la Amazonía, cambiando su producción a sachá inchi, y a la vez garantizándoles un mejor pago. De esta forma la empresa recibe actualmente la semilla de sachá inchi de distintas zonas de la Amazonía para elaborar productos como snacks, harinas y aceites, abasteciendo principalmente a los mercados de Asia, Europa y Estados Unidos.
Algarrobos Orgánicos del Perú	Algarrobos - algarrobina	Modelo de empresa familiar que inició el 2007, apostó por un trabajo directo con las asociaciones para garantizar la calidad y para beneficiar a los más de 200 productores con quienes trabaja.

Fuente: PROMPERU; 2014. *Elaboración Propia*

Tabla 4. Empresas peruanas que aplican el Biocomercio (*Continuación*).

EMPRESA	PRODUCTO	APLICACIÓN DEL BIOCOMERCIO
Candela Perú sigla de “Comercio Alternativo de productos No tradicionales y Desarrollo para América Latina- Perú”.	Castaña y líneas de productos con valor agregado: aceites de castaña, de sacha inchi, de ungurahui, de aguaje y de maracuyá; manteca de copoazú; suplementos y frutos deshidratados; y línea de chocolates orgánicos (marca Muccha).	Esta organización fue fundada en 1989, su trabajo consiste en la producción y comercialización, a nivel local e internacional, de productos naturales y orgánicos basados en la biodiversidad peruana, principalmente de la región amazónica. Candela Perú vincula la conservación de ecosistemas a la generación de ingresos para los diversos pueblos rurales y forestales, trabajando así con la lógica de la cadena de valor.
Eko Business	Producción y comercialización de bebidas funcionales de productos naturales. Sus líneas son: línea orgánica, línea dietética, línea té verde, línea medicinal, línea ice tea, línea de jugos de fruta con vegetales, línea ají fusión.	Esta empresa trabaja con once comunidades campesinas de la costa central del país. Realiza además actividades de investigación, fomento agrario, educación rural y asistencia médica, todo esto en beneficio de los pequeños agricultores. Sus productos contienen hojas de plantas medicinales y aromáticas cultivadas de forma natural sin pesticidas ni químicos.

Fuente: PROMPERU; 2014. *Elaboración Propia*

2.7 Escala tipo Likert

Este tipo de escala fue inventada por Rensis Likert en 1932 con el fin de ser utilizada en la medición de actitudes. Estas escalas son consideradas instrumentos psicométricos en el cual la persona encuestada da a conocer su acuerdo o desacuerdo acerca de una afirmación a través de una escala ordenada. Dentro de los campos en los que más se utiliza esta escala figuran, Ciencias Sociales y Ciencias de la Salud⁴⁵.

III. METODOLOGÍA

3.1 Elaboración de extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados del Huari-Áncash bajo principios del Biocomercio.

3.1.1 Recolección de la planta bajo principios del biocomercio

3.1.1.1 Análisis de cumplimiento de principios del biocomercio

Siguiendo el método referencial de la Escala tipo Likert⁴⁵, complementado con la revisión de especialistas, se evaluó el cumplimiento de los principios del Biocomercio de la presente investigación. Asimismo, en el **Anexo 4** se detalla la información utilizada para el análisis respectivo que a su vez se ve esquematizado en la **Figura 9**.

La escala a utilizar contempla los siguientes valores: 0 “no se cumple”, 1 “cumplimiento bajo”, 2 “cumplimiento medio”, 3 “cumplimiento alto” y 4 “cumplimiento muy alto”; en caso de que no aplique, se coloca N/A “no aplica”. La puntuación final de cumplimiento de principios y criterios del biocomercio está en función a lo planteado dentro del alcance del presente estudio de investigación, *ceteris paribus*, delimitado por el objetivo principal.

3.1.1.2 Recolección de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus*

La muestra vegetal (planta *Ullucus tuberosus*), se recolectó en baldes de plástico en el mes de enero del 2019 con destino a Lima, el lugar de recolección fue el Centro Poblado de Huamantanga en el Distrito de Huari –Región de Áncash-Perú **Anexo 10**.

Flujograma

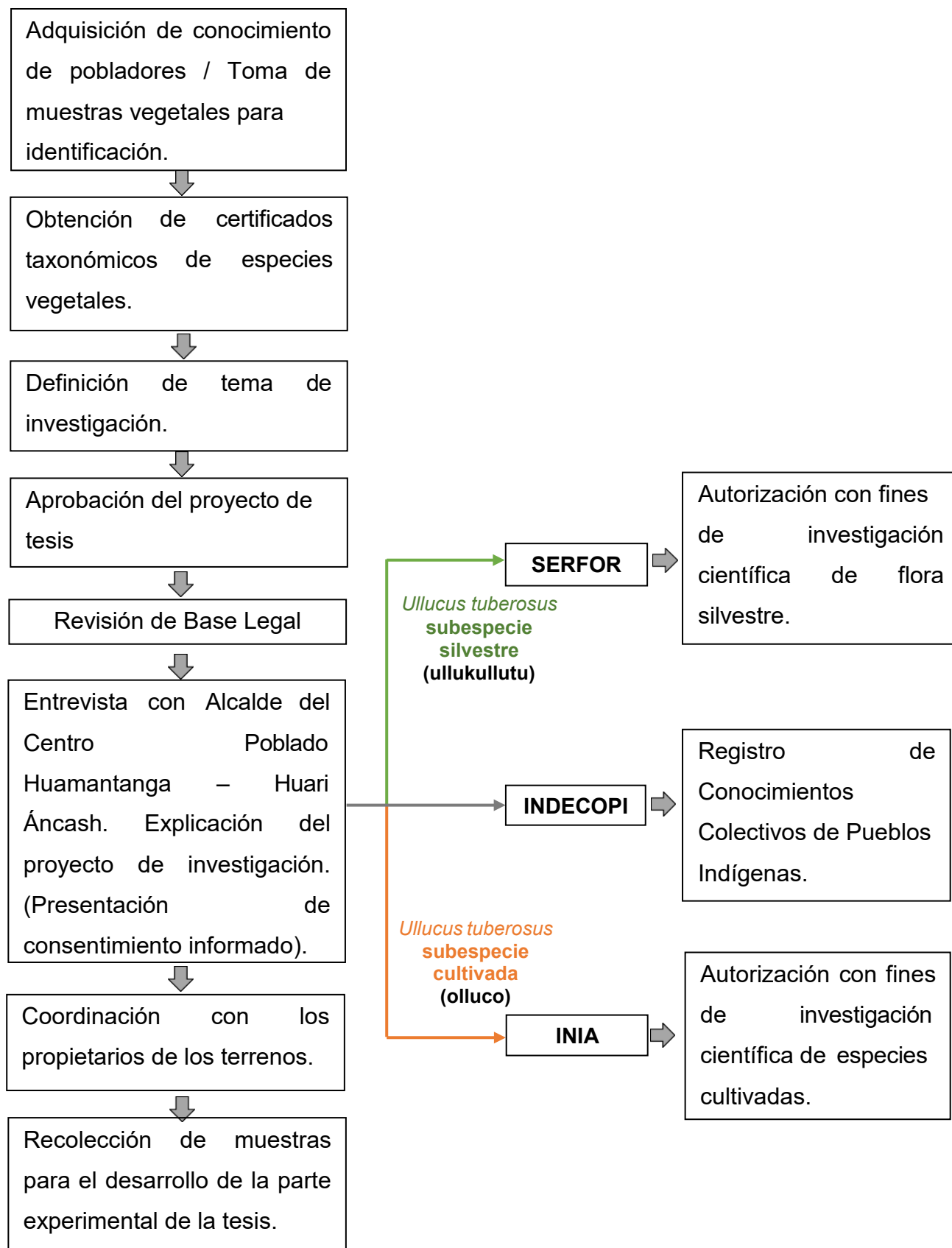


Figura 9. Procedimiento de recolección con cumplimiento de Biocomercio. **Fuente:** elaboración propia.

3.1.2 Identificación y procesamiento de la planta

Se realizó la recolección de las muestras **Anexo 16** y fueron llevadas al Museo de Historia Natural - UNMSM para la identificación respectiva. Para el procesamiento de las plantas se realizaron las operaciones descritas en la **Figura 10**.

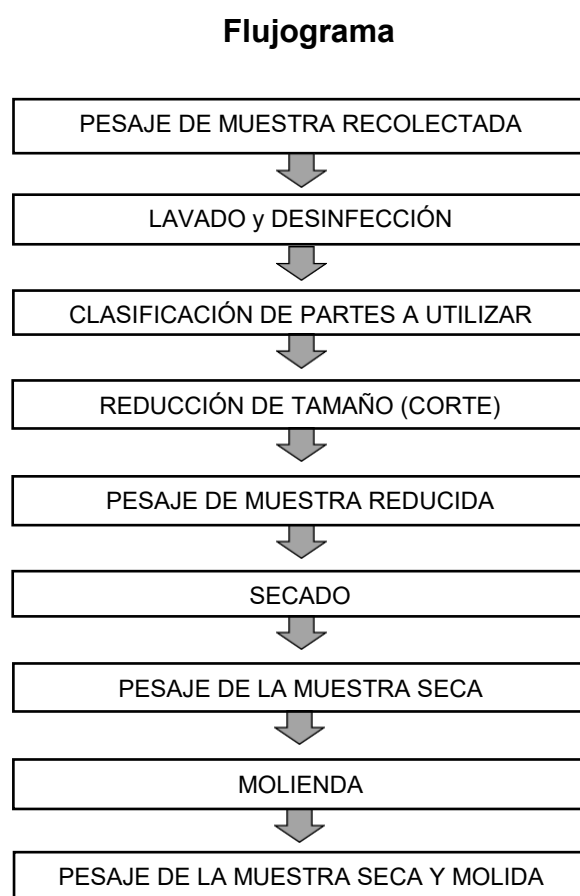


Figura 10 . Procesamiento de muestra fresca a polvo.

Fuente: *elaboración propia.*

En la etapa de pretratamiento **Anexo 17**, se separó la tierra que contenía la muestra fresca de *Ullucus tuberosus* (silvestre y cultivada), se pesaron las muestras en su totalidad en la balanza electrónica Marca Ohaus - Modelo Adventurer TM, luego se lavó con agua potable hasta que no se observen trazas de tierra; posteriormente se sumergieron las muestras en solución desinfectante 0,5 % (Kilol “desinfectante y fungicida natural” – QUIMTIA S.A.) por 5 min y se dejó secar por 30 min a temperatura ambiente. Se realizó la diferenciación de las partes de la planta (hojas, tallo y raíz), se separaron los tallos (material de investigación). Todo se realizó en un área previamente desinfectada con alcohol al 70% y luego con alcohol al 96%, en el Laboratorio de DAFAF de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM.

Se redujo el tamaño de la muestra con cuchillo y tijeras, previamente desinfectadas, y se pesó. Seguidamente, se llevó a cabo el proceso de secado colocando las muestras sobre papel Kraft rotulado para ser puestos en una estufa sanitizada marca Memmert, a 40°C (Ullukullutu por 4 días, Olluco por 6 días). Para determinar la culminación del proceso de secado, se realizaron pesajes continuos de los controles (muestra representativa colocada en cápsulas de porcelana) en la balanza marca Mettler Toledo AL 204, hasta obtener valores constantes. Después del secado, se pesó toda la muestra seca, se colocó en papel Kraft y dentro de bolsas Ziploc.

Para el proceso de molienda, se utilizó un molino de cuchillas marca Wiley Mill – Modelo Estandar N°3, serie 4275 malla 2mm, sanitizado 1 día antes de su uso. Se pesó todo el polvo obtenido, se cubrió con papel Kraft, seguido de papel platino y se introdujo en una bolsa Ziploc garantizando así la hermeticidad necesaria para finalmente colocar la bolsa dentro de un desecador (Ullukullutu por 11 días, Olluco por 9 días). La sal desecante utilizada fue sulfato de cobre la cual fue activada por 1 hora en la estufa para luego colocarla en el desecador (para ello se tomó el peso antes y después del secado con el fin de garantizar la pérdida de agua). Antes de iniciar con la elaboración del extracto, se pesó cada muestra y se corroboró que no ganó peso al estar conservada en el desecador.

3.1.3 Elaboración del extracto hidroalcohólico de tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus*.

Se realizó el proceso de extracción basado en la metodología de Ma L, et al.; 2009⁴⁶.

3.1.3.1 Preparación del extracto

Se maceró 200 g de la muestra seca y molida de los tallos de la planta *Ullucus tuberosus* sub especie silvestre “ullukullutu” en 2000 mL de etanol al 70%, en paralelo se maceró 50 g de la muestra seca y molida de los tallos de la subespecie cultivada “olluco” en 500 mL de etanol al 70%²²; estos extractos fueron almacenados a temperatura ambiente y se agitaron diariamente. Se filtró cada 7 días y se fue adicionando la misma cantidad de dicho solvente, repitiendo dicho proceso 4 veces. Se realizó filtración grosera del extracto empleando yute, seguido de filtración con papel de filtro y por último se filtró con papel Whatman N°42 (125mm) **Anexo 18**.

3.1.3.2 Concentración del extracto

Se reunieron los extractos filtrados, cada extracto de subespecie por separado y se concentraron en rotavapor marca BUCHI - modelo Vacuum Pump [V-100], serie 10003005883. Se controló la temperatura de 45-50°C y la presión en el rango de 50-75 mmHg hasta obtener un extracto concentrado al 50%. Asimismo, se reguló la velocidad de agitación a N°2 para evitar la formación de espuma y pérdida de muestra. Se adicionó un volumen inicial de 400 mL en el balón, y se concentró hasta obtener 200 mL en un tiempo de 30 minutos **Anexo 18**.

3.1.3.3 Decantación

Esta operación se realizó con el objetivo de comparar los resultados de la cuantificación de saponinas mediante espectrofotometría vs la obtención de saponinas crudas por decantación.

Los extractos de las dos subespecies recibieron el mismo tratamiento de decantación. Se adicionó 30 mL de extracto concentrado a un pera de decantación de capacidad de 125 mL, luego se adicionó 20 mL de agua destilada¹⁴ y se agitó por 5 minutos; posteriormente se adicionó 50 mL de solvente n-butanol y se agitó por 10 minutos²². La separación en fases acuosa y n-butanólica se produjo pasadas las 4 horas aproximadamente, aunque se recomienda un tiempo de 8-10 horas para una mejor separación de fases. Se guardaron las fracciones butanólicas y a las fracciones acuosas se les adicionó n-butanol para volver a ser decantadas dos veces más^{47, 48} **Anexo 19.**

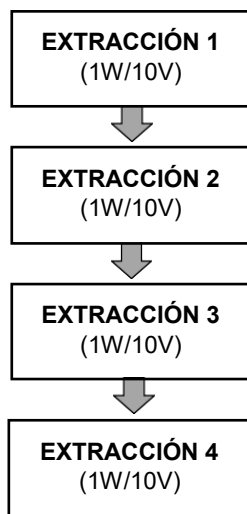
3.1.3.4 Evaporación

Las fracciones n-butanólicas fueron distribuidas en pequeños volúmenes, de peso conocido, para luego ser vertidas dentro de placas Petri y llevadas al baño maría a 60 °C. Se evaporó las fracciones n-butanólicas obteniendo una sustancia seca de color blanquecino verdoso que correspondería a las saponinas crudas, las cuales se almacenaron a - 20 ° C en una congeladora^{49, 48} **Anexo 20.**

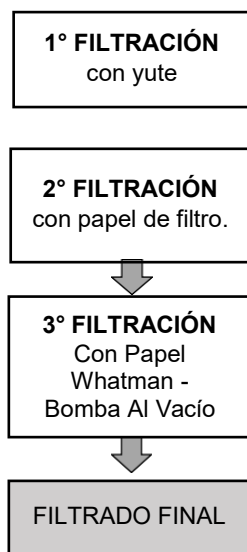
En la **Figura 11** se pueden visualizar las operaciones ya descritas en párrafos anteriores.

Flujograma

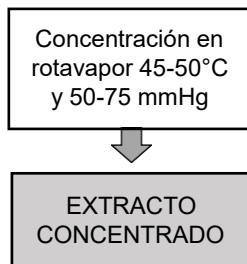
1. Preparación de extractos (polvo / solución hidroalcohólica 70%)



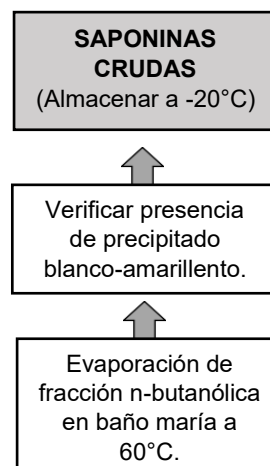
2. Filtración



3. Concentración



5. Evaporación



4. Decantación

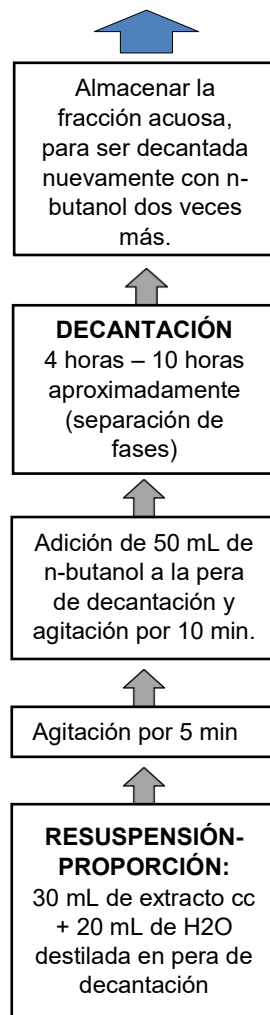


Figura 11. Elaboración de extracto hidroalcohólico - filtración - concentración - decantación y evaporación. **Fuente:** elaboración propia.

3.2 Evaluación de las características fisicoquímicas de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash

3.2.1 Propiedades fisicoquímicas del extracto

- **pH:** se midió el pH de los extractos hidroalcohólicos con un potenciómetro Marca: Mettler Toledo, Modelo SEVEN COMPACT 5220 **Anexo 21.**
- **Densidad:** se midió la densidad de los extractos hidroalcohólicos con un densímetro digital. Marca: Mettler Toledo, Modelo DE40 Density Meter **Anexo 21.**

3.2.2 Marcha fitoquímica preliminar y pruebas de identificación de saponinas

Se realizó la marcha fitoquímica según Olga Lock²⁵. Se adicionó 0.5mL del filtrado final en una serie de tubos de ensayo, en seguida se adicionó los reactivos de acuerdo a lo establecido en cada prueba **Anexo 22 y 23.** Asimismo, se llevó a cabo pruebas específicas para la identificación de saponinas⁵⁰ **Anexo 24 y 25.**

3.3 Comparación del efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash

3.3.1 Cuantificación de saponinas de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus*.

Este procedimiento se realizó en base a la metodología descrita por Le A; 2018³³.

3.2.1.1 Preparación de reactivos

Se preparó los reactivos vainillin en etanol 4% (w/v) y H₂SO₄ en agua 72% (v/v).

3.2.1.2 Preparación de extractos

Para la realización de esta prueba, se prepararon dos extractos, de *Ullucus tuberosus*, de la subespecie silvestre “ullukullutu” y de la subespecie cultivada “olluco”, con solución hidroalcohólica al 70%; con el fin de replicar lo descrito en la sección 3.1.3. garantizando un control de peso y volumen más exhaustivo.

Tabla 5. Cantidades utilizadas para preparación de los extractos

MUESTRA	Cantidad de muestra seca y molida (g)	Cantidad de solvente (mL)	Concentración del extracto (g/mL)
Ullukullutu	10	100	1/10
Olluco	10	100	1/10

Tabla 6. Descripción de operaciones de extracción-filtración y cantidades obtenidas

ETAPAS	Descripción	ULLUKULLUTU	OLLUCO
1er EXTRACTO PREPARACIÓN	Muestra molida	10,00g	10,00g
	Cantidad de solvente	100,00mL	100,00mL
1era FILTRACIÓN GROSERA	Peso frasco + mosto filtrado con yute	331,85g	407,25g
	Volumen obtenido	48,00mL	50,00mL
2da EXTRACTO PREPARACIÓN	Cantidad de solvente	100,00mL	100,00mL
2da FILTRACIÓN GROSERA	Peso frasco + mosto filtrado con yute	335,90g	330,60g
	Volumen obtenido	75,00mL	80,00mL
3er EXTRACTO PREPARACIÓN	Cantidad de solvente	100,00mL	100,00mL
3ra FILTRACIÓN GROSERA	Peso frasco + mosto filtrado con yute	338,06g	331,14g
	Volumen obtenido	55,00mL	85,00mL
4to EXTRACTO PREPARACIÓN	Cantidad de solvente	100,00mL	100,00mL
4ta FILTRACIÓN GROSERA	Peso frasco + mosto filtrado con yute	334,46g	329,17g
	Volumen obtenido	90,00mL	83,30mL

Para detectar la culminación de extracción, se realizó una comparación de las soluciones de extractos obtenidas luego de cada filtración.

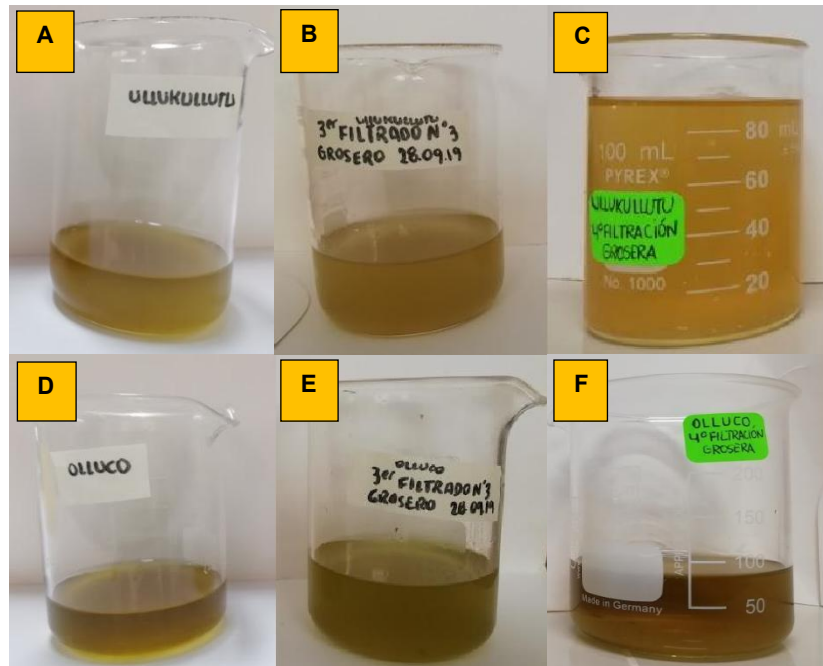


Figura 12. Extractos obtenidos luego de filtración grosera. **A.** 2^{da} filtración grosera (yute) de extracto de Ullukullutu. **B.** 3^{ra} filtración grosera (yute) de extracto de Ullukullutu. **C.** 4^{ta} filtración grosera (yute) de extracto de Ullukullutu. **D.** 2^{da} filtración grosera (yute) de extracto de Olluco. **E.** 3^{ra} filtración grosera (yute) de extracto de Olluco. **F.** 4^{ta} filtración grosera (yute) de extracto de Olluco.

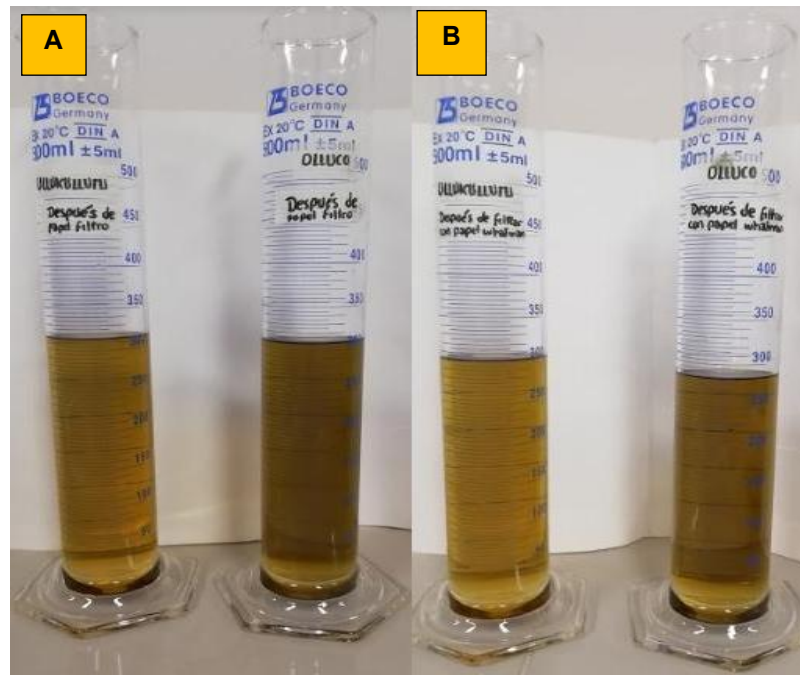


Figura 13. Extractos obtenidos luego de filtración con papel filtro y whatman. **A.** Soluciones luego de filtración con papel de filtro de extractos de Ullukullutu y olluco respectivamente. **B.** Soluciones luego de filtración con papel whatman de extractos de Ullukullutu y olluco respectivamente.

3.2.1.3 Procedimiento

a. Elaboración de la curva de calibración de escina

Se utilizó Escina, estándar que consiste en una mezcla de saponinas triterpenoides (Escin, $\geq 95\%$, polvo, E1378, marca SIGMA - Ficha de especificación en **Anexo 26**) con el fin de elaborar una curva de calibración estándar **Figura 14**. Se preparó una solución stock de $15\,000\text{ mg L}^{-1}$. Para obtener la solución stock se disolvió 150 mg de estándar en 10 mL de metanol. Se prepararon 4 diluciones por triplicado de la solución stock, las cuales fueron colocadas en 12 tubos de ensayo respectivamente y se adicionó en otro tubo de ensayo, metanol como blanco **Tabla 7**.

Tabla 7. Concentraciones de estándar Escina

ESTANDAR	DILUCIÓN	CONCENTRACIÓN (mg L^{-1})
(a)	Solución stock (sin dilución)	15000
(b)	2 mL (a) + 2 mL metanol	7500
(c)	2 mL (b) + 2 mL metanol	3750
(d)	2 mL (c) + 2 mL metanol	1875
(e)	2 mL (d) + 2 mL metanol	937,5
Blanco	Solo metanol	0

Se colocó 25 μL de cada solución estándar preparada de saponinas en una serie de 16 tubos de ensayo (12 tubos correspondientes a las 4 diluciones, 3 tubos correspondientes a la solución stock y un tubo blanco).

Todos los tubos se colocaron en baño maría a 65°C con el fin de que el metanol evapore hasta sequedad, aproximadamente 5 min, esta operación lleva la denominación de “removida” (haciendo referencia que pasó por un proceso de remoción de solvente). Luego, 0,5 mL de 4% vainillin en etanol (w/v) se adicionó a cada tubo, seguido de 2.5 mL de 72% H_2SO_4 (v/v). Los tubos se cubrieron, agitaron e incubaron en baño maría a 60°C por 15 min y luego se enfriaron por 5 min a temperatura ambiente. Se realizó la medida de las

absorbancias a 560 nm utilizando el espectrofotómetro UV-Visible GENESYS 150 Marca: Thermo Scientific, luego de haber llevado a cero con el blanco. Se graficaron los valores de absorbancia obtenidos versus las concentraciones para construir una curva estándar.

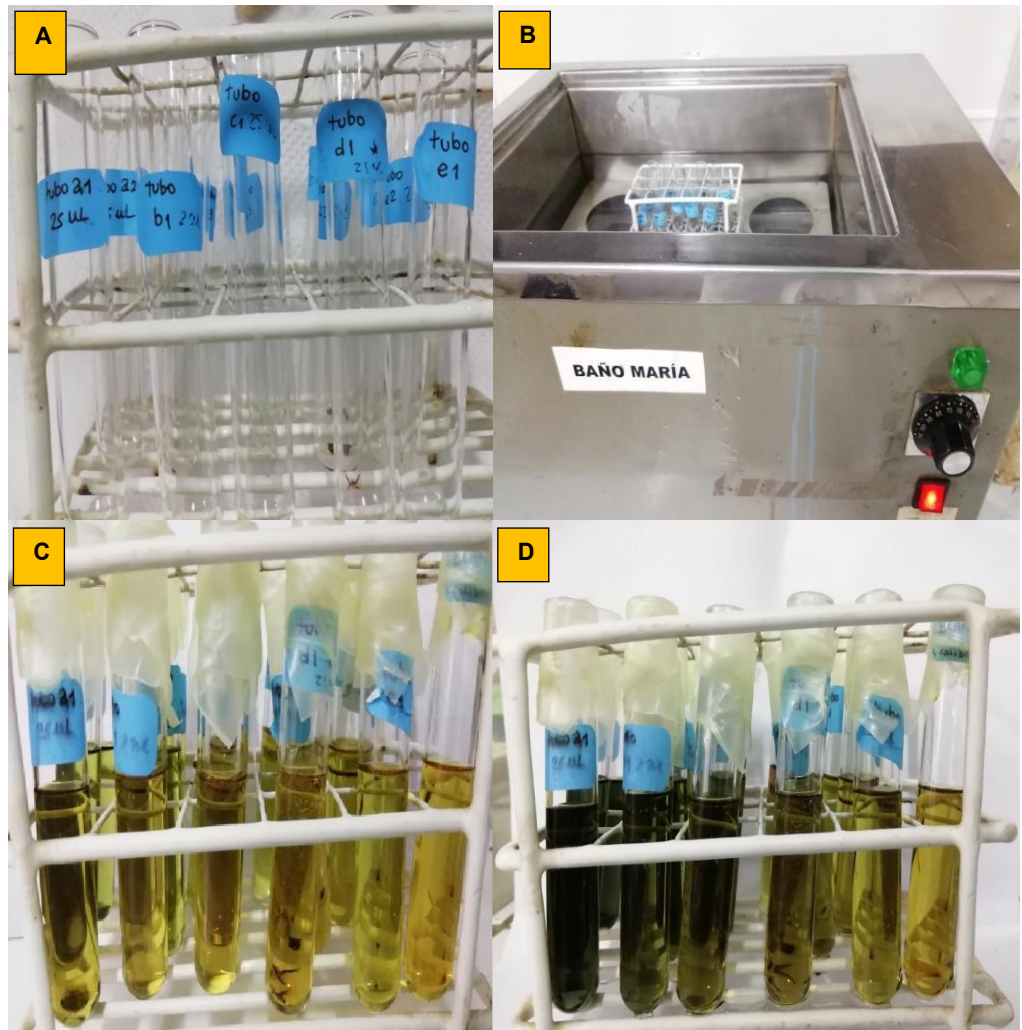


Figura 14. Elaboración de curva de calibración de escina. **A.** Tubos con 25 µL de las diluciones preparadas a partir del stock de escina. **B.** Evaporación en baño maría por 5 min a 60°C de los tubos que contenían 25 µL de las diluciones preparadas. **C.** Adición de 0,5 mL de 4% (w/v) vainillina en etanol, y 2,5 mL de solución al 72% (v/v) de H_2SO_4 en agua. **D.** Tubos luego de 15 min en baño maría a 60°C. Las soluciones inicialmente estaban de color verde amarillento luego del baño maría se intensificaron a verde oscuro.

b. Determinación de contenido de saponinas en tallos de *Ullucus tuberosus*

Continuando con la prueba de determinación de contenido total de saponinas por el método de Vanillin-Ácido sulfúrico modificado, se adicionó lo siguiente: **Tubo 1:** 0,025 mL de solución hidroalcohólica al 70% (removida), 0.500 mL de 4% (w/v) vanillin en etanol y 2,50 mL de 72% (v/v) ácido sulfúrico en agua. **Tubo 2:** 0,025mL del extracto hidroalcohólico de tallos de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre (removida), 0,500 mL de 4% (w/v) vanillin en etanol y 2,50mL de 72% (v/v) ácido sulfúrico en agua. **Tubo 3:** 0,025mL del extracto hidroalcohólico de tallos de *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada (removida), 0,500 mL de 4% (w/v) vanillin en etanol y 2,50mL de 72% (v/v) ácido sulfúrico en agua **Tabla 8.** Se incubó por 15 min a 60°C en baño maría en movimiento y se dejó enfriar a temperatura ambiente por 5 minutos. La absorbancia se midió a 560 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS GENESYS 150 Marca: Thermo Scientific. Considerar que lo descrito en el tubo n°2 y tubo n°3 se realizó por triplicado **Figura 15.**

Tabla 8. Ensayo modificado de ácido sulfúrico – vanillin

COMPONENTE	Tubo 1 "Blanco" (mL)	Tubo 2 (mL)	Tubo 3 (mL)
Solvente de extracción	0,025	-	-
Muestra en solvente de extracción	-	0,025	0,025
Vainillina 4% (w/v) en etanol	0,5	0,5	0,5
Ácido sulfúrico 72% (v/v) en agua	2,5	2,5	2,5

El Contenido Total de saponinas (TSC) se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Contenido total de saponinas} = \frac{\text{Peso de saponinas en el extracto (mg)}}{\text{Peso polvo de } Ullucus \text{ tuberosus (g)} * (1 - \frac{\text{contenido humedad (\%)}}{100})}$$

(Equivalente mg saponina base seca / g muestra)

Donde:

- **Peso de saponinas en el extracto (mg):** mg calculados luego de extrapolar la absorbancia del tubo 2 y/o 3.
- **Peso del polvo de *Ullucus tuberosus*:** peso (g) de polvo de los tallos de *Ullucus tuberosus* utilizado en la preparación del extracto.
- **Contenido de humedad:** contenido de humedad expresado en % respecto a la muestra vegetal fresca.

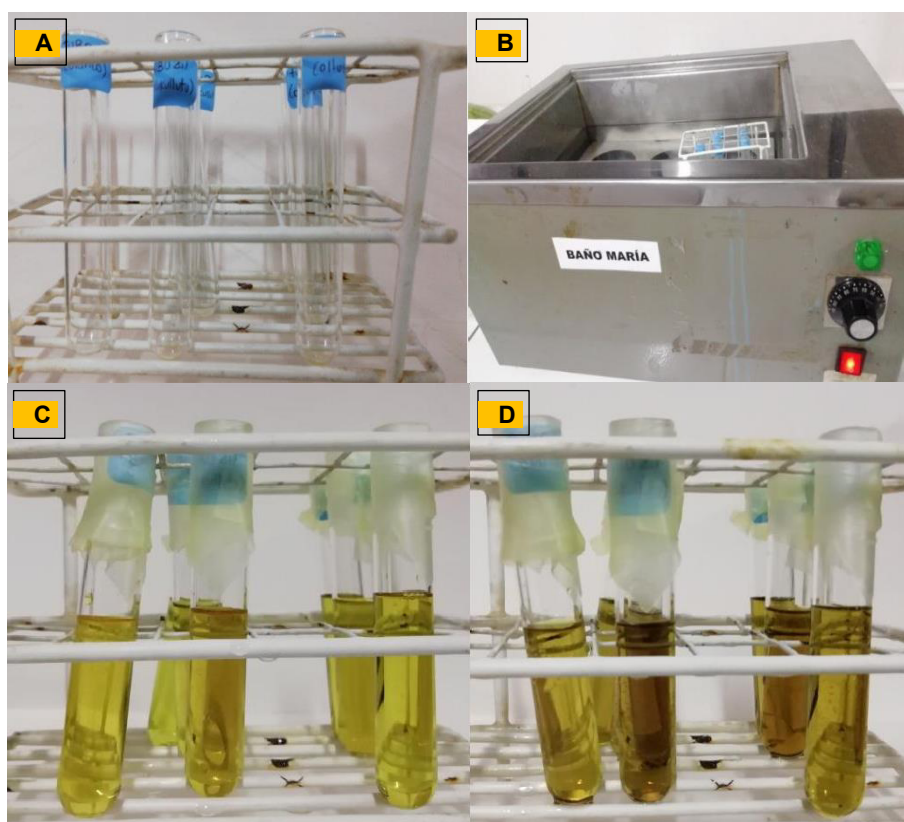


Figura 15. Preparación de muestras para la lectura espectrofotométrica. **A.** Tubos con 25 μL de los extractos hidroalcohólicos de *Ullucus tuberosus* y el blanco. **B.** Evaporación en baño maría por 5 min a 60°C de los tubos que contenían 25 μL de los extractos hidroalcohólicos de *Ullucus tuberosus* y el blanco. **C.** Adición de 0,5 mL de 4% (w/v) vainillina en etanol, y 2,5 mL de solución al 72% (v/v) de H_2SO_4 en agua. **D.** Tubos luego de 15 min en baño maría a 60°C . Las soluciones tomaron un color amarillo verdoso luego del baño maría.

A continuación, se presenta la **Figura 16** donde se representa esquemáticamente el procedimiento de cuantificación de saponinas por espectrofotometría.

Flujograma

1. Curva de calibración

Preparar una solución stock de estándar escina de 15 000 mg L⁻¹. (150 mg de estándar en 10 mL de metanol) y preparar diluciones por triplicado.

Fiola/Tubo	Dilución	Concentración (mg L ⁻¹)
(a)	Solución stock (sin dilución)	15000
(b)	2 mL (a) + 2 mL metanol	7500
(c)	2 mL (b) + 2 mL metanol	3750
(d)	2 mL (c) + 2 mL metanol	1875
(e)	2 mL (d) + 2 mL metanol	937,5
Blanco	Solo metanol	0

Colocar 25 µL de cada dilución preparada en una serie de tubos de ensayo por triplicado.

Tubos Stock			Tubos de diluciones												Blanco
(a ₁)	(a ₂)	(a ₃)	(b ₁)	(b ₂)	(b ₃)	(c ₁)	(c ₂)	(c ₃)	(d ₁)	(d ₂)	(d ₃)	(e ₁)	(e ₂)	(e ₃)	
25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL	25 µL

Baño María 65 °C por 5 min

Adicionar 0,5 mL de 4% vainillina en etanol (w/v)

Adicionar 2,5 mL de 72% H₂SO₄ (v/v)

Cubrir los tubos con parafilm, agitar e incubar en Baño maría a 60°C por 15 min, luego enfriar 5 min a T° amb.

Medir absorbancia a 560 nm en espectrofotómetro GENESYS 150 UV-Visible Marca: Thermoscientific.

2. Determinación de contenido de saponinas

En tubos (Tubos 2 y 3 por triplicado), adicionar lo siguiente según la tabla: **Tubo 2:** muestra del extracto *Ullucus tuberosus* de subespecie silvestre. **Tubo 3:** muestra del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada.

Componente	Tubo 1 Blanco (mL)	Tubo 2 (mL)	Tubo 3 (mL)
Solvente de extracción	0,025	-	-
Muestra en solvente de extracción	-	0,025	0,025
Baño María 65 °C por 5 min. Luego adicionar:			
Vainillina 4% (w/v) en etanol	0,5	0,5	0,5
Ácido sulfúrico 72% (v/v) en agua	2,5	2,5	2,5
Cubrir los tubos con parafilm, agitar e incubar en Baño maría a 60°C por 15 min, luego enfriar 5 min a T° amb.			
Medir absorbancia a 560 nm en espectrofotómetro UV-Visible.			

Figura 16. Procedimiento de Cuantificación de Saponinas por Método Modificado del Ácido sulfúrico – vainillina. Fuente: *elaboración propia*.

3.3.2 Determinación del nivel de espuma

Se preparó una solución acuosa al 0,1% por cada tensioactivo donde 0,1 g de cada muestra fue disuelta en 20mL de agua destilada caliente a 40 °C y se completó el volumen a 100mL con agua destilada fría a 19 °C, para lo cual se hizo uso de una balanza analítica Marca Ohaus – Modelo Adventurer TM (sensibilidad 0,01 g; capacidad máxima 3 100 g); de dichas soluciones preparadas, 50mL se transfirió a una probeta graduada de capacidad de 250mL. Se tapó la probeta y se procedió a agitar 50 veces de una forma enérgica y rápida de modo horizontal. Se dejó en reposo por 1 min y se tomó lectura del volumen total (agua + espuma) y del volumen del agua debajo de la espuma hasta la interfase. Se repitieron las lecturas así como lo antes mencionado obteniendo datos al inicio, 1 min, 2 min, 5 min y 15 minutos de reposo. Seguido de ello, se determinó el volumen de espuma de cada muestra mediante la siguiente ecuación^{28, 51}:

$$V = V_1 - V_2$$

Donde:

V = volumen de la espuma.

V1 = volumen total (agua + espuma).

V2 = volumen de agua hasta la interfase.

A continuación, se presenta la **Figura 17**, donde se plasma el procedimiento realizado.

Flujograma

1. Preparación de soluciones tensioactivas 0,1%

Colocar 0,1g de tensioactivo en un beacker, adicionar 20mL de agua destilada caliente y completar c.s.p. 100mL con agua destilada fría

Tensioactivos:

- SLS
- Lauril éter sulfato de sodio
- Cocoglucoside
- Cocamidopropil betaína
- Saponinas crudas de Ullukullutu
- Saponinas crudas de olluco



2. Generación de espuma

Transferir 50mL de solución tensioactiva a una probeta graduada de 250mL.

Tapar la probeta

Agitar la probeta 50 veces enérgica y rápidamente de modo horizontal.

Destapar la probeta

Por triplicado



4. Cálculo de Nivel de espuma

$$V = V_1 - V_2$$

Medir nivel de espuma cumplido 1 min, 2min, 5 min y 15 min.

Dejar en reposo por 1 min, 2min, 5 min y 15 min.

Medir el nivel de espuma inicial: volumen total (agua + espuma) y volumen del agua.

Colocar la probeta sobre una base plana

3. Medición de espuma generada

Donde:

V = volumen de la espuma.

V1 = volumen total (agua + espuma).

V2 = volumen de agua en la interface.

Por triplicado

Figura 17 . Procedimiento de Determinación de Nivel de espuma. **Fuente:** elaboración propia.

IV. RESULTADOS

4.1 Elaboración de extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados del Huari-Áncash bajo principios del Biocomercio

4.1.1 Recolección de la planta bajo principios del biocomercio

4.1.1.1 Análisis de cumplimiento de principios del biocomercio

Según lo indicado en el punto 3.1.1.1 y en base a lo descrito en los **Anexos 4, 11, 13, 15** y en la **Figura 19**, se elaboró la **Tabla 9** (evaluación detallada en **Anexo 9**) en la que se valoró el cumplimiento de los Principios y Criterios del Biocomercio (PYC BC). Se utilizó una Escala tipo Likert con 5 alternativas según lo indicado en la **Leyenda**.

Tabla 9. Evaluación de cumplimiento de PYC BC – Escala Tipo Likert

PRINCIPIOS DEL BIOCOMERCIO	ESCALA TIPO
	LIKERT
	Cumplimiento PYC BC
P1 Conservación de la biodiversidad	3
P2 Uso sostenible de la biodiversidad	4
P3 Distribución justa y equitativa de los beneficios derivados del uso de la biodiversidad	2
P4 Sostenibilidad socioeconómica (de gestión, productiva, financiera y de mercado)	1
P5 Cumplimiento de la legislación nacional e internacional	3
P6 Respeto de los derechos de los actores involucrados en el biocomercio	4
P7 Claridad sobre la tenencia de la tierra, el uso y el acceso a los recursos naturales y a los conocimientos	3

Leyenda

0: No se cumple

1: Cumplimiento bajo

2 : Cumplimiento medio

3: Cumplimiento alto

4: Cumplimiento muy alto

Dicha puntuación también se ve reflejada en la **Figura 18** que se presenta a continuación:

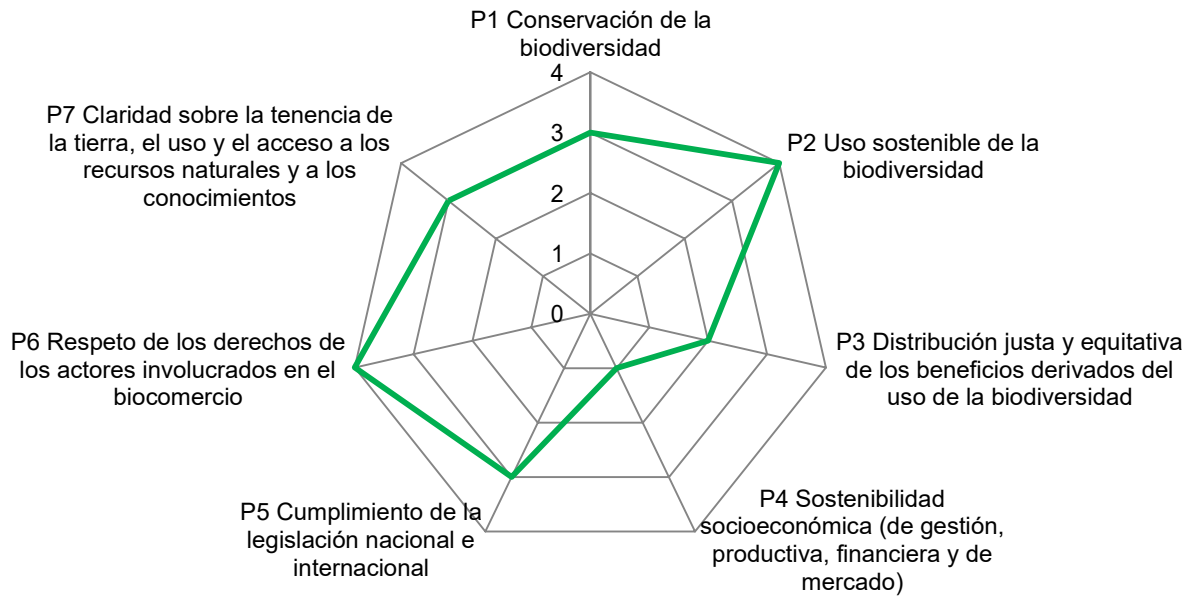


Figura 18. Proyecto extractos de tallos de *Ullucus tuberosus* - Cumplimiento PYC BC.

Fuente: elaboración propia

Según la evaluación realizada, se observa **cumplimiento muy alto** del Principio 2 y Principio 6; **cumplimiento alto** del Principio 1, Principio 5 y Principio 7; **cumplimiento medio** del Principio 3 y **cumplimiento bajo** del Principio 4.

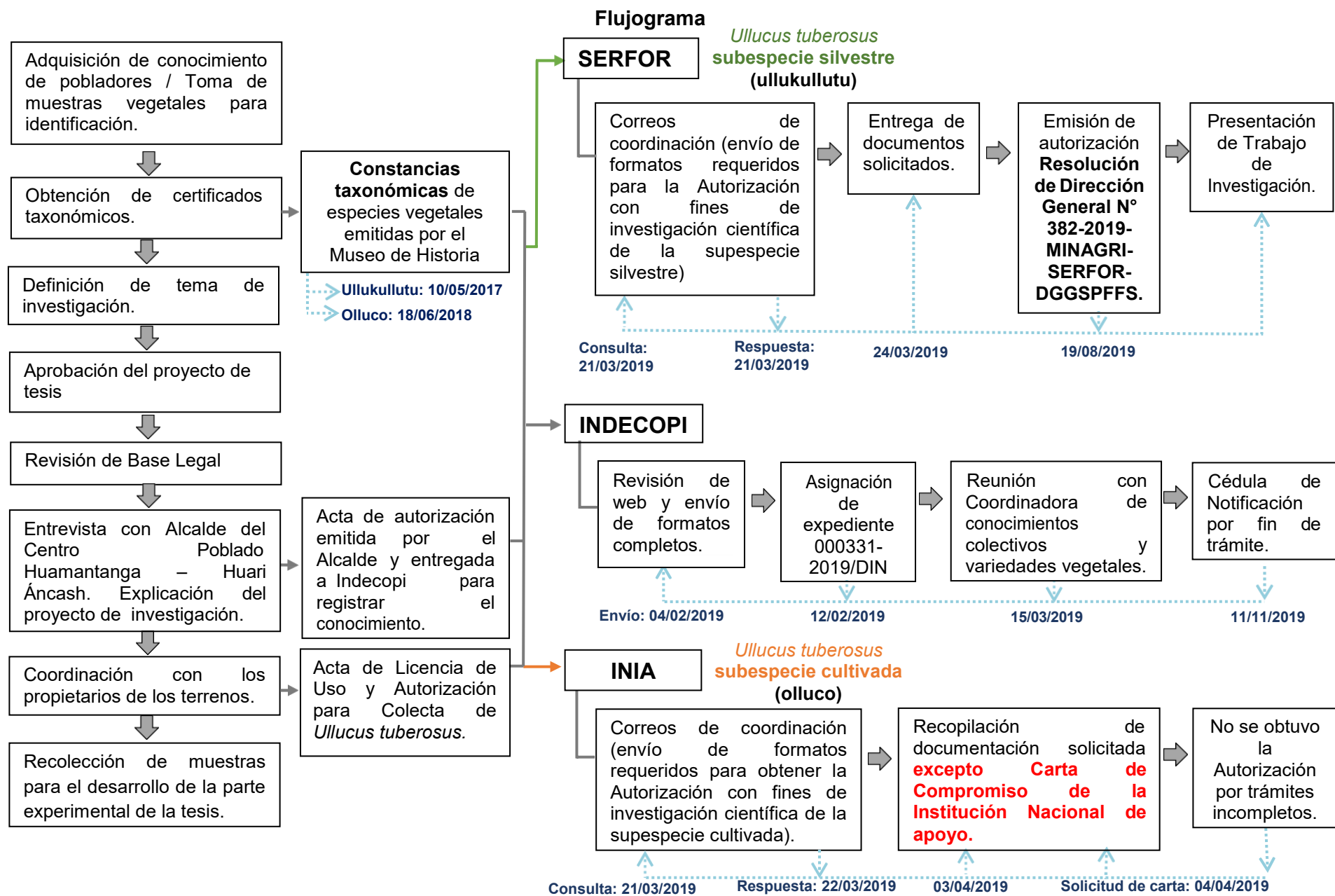


Figura 19. Resultados de trámite para autorización de investigación cumpliendo principios del Biocomercio. **Fuente:** elaboración propia.

4.1.1.2 Recolección de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus*

Habiéndose llevado a cabo la entrevista correspondiente con el Alcalde del Centro Poblado de Huamantanga, Distrito de Huari, Provincia de Huari, Región Áncash, se procedió con la recolección de las subespecies en mención.

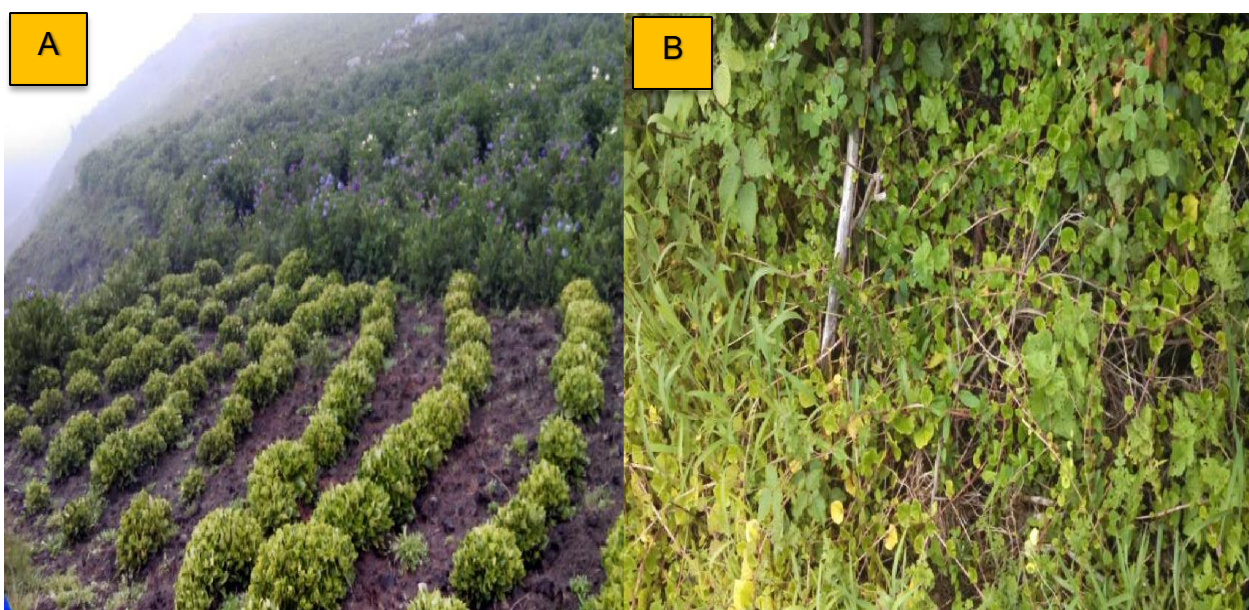


Figura 20. Zona de recolección de *Ullucus tuberosus* **A** Cultivo de olluco. **B.** Ullukullutu, planta que crece como enredadera. **Fuente:** fotografía *in situ*.

Se prosiguió con la tramitación pertinente según se muestra en el **Figura 19** con el fin de respetar los principios del Biocomercio.

4.1.2 Identificación y procesamiento de la planta

4.1.2.1 Identificación taxonómica de las muestras vegetales

El Museo de Historia Natural – UNMSM emitió las CONSTANCIAS N°069-USM-2017, N°226-USM-2018 indicando que las muestras tienen la siguiente posición taxonómica **Figura 23 y 24**:

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: CARYOPHYLLIDAE

ORDEN: CARYOPHYLLALES

FAMILIA: BASELLACEAE

GÉNERO: *Ullucus*

ESPECIE: *Ullucus tuberosus* Caldas

Nombre vulgar: “Ullukullutu”



Figura 21. *Ullucus tuberosus* “Ullukullutu” (silvestre - enredadera)

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: CARYOPHYLLIDAE

ORDEN: CARYOPHYLLALES

FAMILIA: BASELLACEAE

GÉNERO: *Ullucus*

ESPECIE: *Ullucus tuberosus* Caldas

Nombre vulgar: “olluco”



Figura 22. *Ullucus tuberosus* “Olluco” (cultivada).



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 069-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Yuly Yesenia COTRINA ORDOÑEZ** e **Ivette Katherine LEON ROJAS**, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: ***Ullucus tuberosus*** Caldas y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: CARYOPHYLLIDAE

ORDEN: CARYOPHYLLALES

FAMILIA: BASELLACEAE

GENERO: *Ullucus*

ESPECIE: *Ullucus tuberosus* Caldas

Nombre vulgar: "Ullukullutu"

Determinado por: Mg. Hamilton Beltrán Santiago

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 10 de mayo de 2017.



Asunción Cano Echevarría
Mag. ASUNCIÓN CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Figura 23. Constancia taxonómica N°069-USM-2017 – Museo de Historia Natural "Ullukullutu".



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 226-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta estéril) recibida de **Ivette Katherine LEON ROJAS y Yuly Yesenia COTRINA ORDOÑEZ e**, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: ***Ullucus tuberosus*** Caldas y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: CARYOPHYLLIDAE

ORDEN: CARYOPHYLLALES

FAMILIA: BASELLACEAE

GENERO: *Ullucus*

ESPECIE: *Ullucus tuberosus* Caldas

Nombre vulgar: "Olluco"

Determinado por: Mg. Asunción Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 18 de junio de 2018.




Mag. ASUNCION CANO ECHEVARRIA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Figura 24. Constancia taxonómica N°226-USM-2018 – Museo de Historia Natural "Olluco".

4.1.2.2 Procesamiento de las muestras vegetales

A continuación, se presenta la **Tabla 10** con las cantidades de muestras obtenidas en cada proceso, antes de realizar el extracto hidroalcohólico **Anexo 17**. Adicionalmente, en dicha tabla se muestra el porcentaje que representa el polvo obtenido con respecto a la muestra fresca total de cada subespecie en estudio.

Tabla 10. Pesos obtenidos de muestras de *Ullucus tuberosus*

MUESTRA	Peso total muestra fresca (raíz, tallos, hojas)	Peso tallos frescos cortados	Peso de material secado a 40°C	Peso de polvo luego de molienda	%del polvo respecto a la muestra inicial	%del polvo respecto a tallo fresco
Ullukullutu	3764,05 g	3098,13 g	319,00 g	308,52 g	8,20%	9,96%
Olluco	5631,65 g	1746,30 g	65,76 g	63,36 g	1,13%	3,63%

Para la determinación del punto final del proceso de secado **Tabla 11**, se analizó el comportamiento del control **Tabla 12 y 13** y se detectó una tendencia descendente que con el transcurso del tiempo se mantuvo constante **Figura 25 y 26**.

Tabla 11. Tiempo total de secado de muestras

Muestra	Muestra total seca (tallos)	Tiempo de secado
Ullukullutu	3098,13 g	4,74 días
Olluco	1746,30 g	4,63 días

Tabla 12. Comportamiento de secado de peso del control de Ullukullutu

MUESTRA CONTROL - ULLUKULLUTU	
Tiempo (días)	Peso (g)
0,0	5,8100
1,8	0,5422
2,8	0,4383
3,6	0,4383
3,9	0,4372
4,6	0,4367
4,7	0,4367

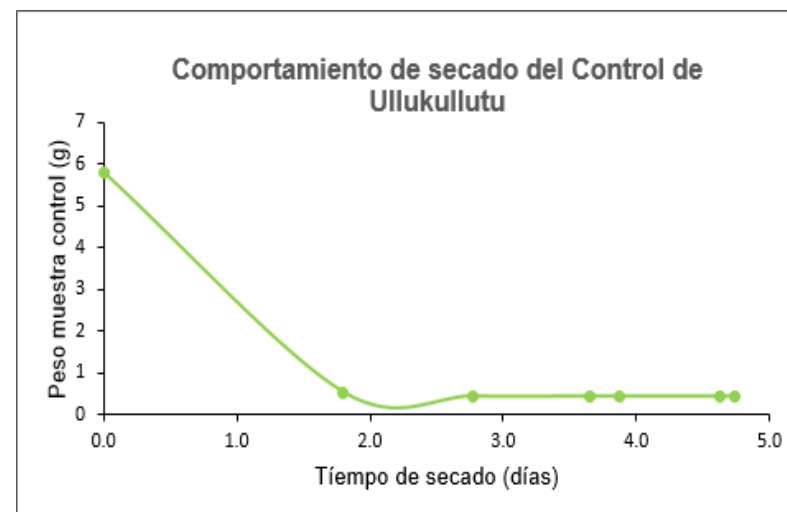


Figura 25. Comportamiento de secado del Control de Ullukullutu.
Fuente: elaboración propia

Tabla 13. Comportamiento de secado de peso del control de Olluco

MUESTRA CONTROL - OLLUCO	
Tiempo (días)	Peso (g)
0,0	7,1700
0,8	0,5188
1,8	0,2493
2,6	0,2440
3,7	0,2410
4,6	0,2410

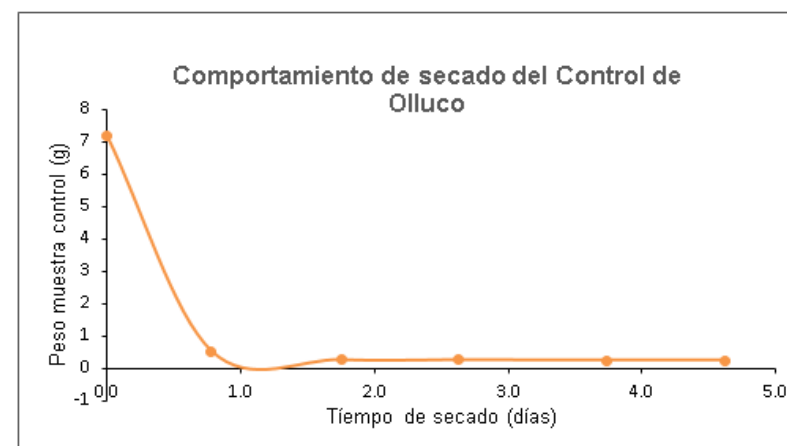


Figura 26. Comportamiento de secado del Control de olluco.
Fuente: elaboración propia

4.1.3 Elaboración del extracto hidroalcohólico de tallos de *Ullucus tuberosus*

Se prepararon los extractos hidroalcohólicos en la proporción 1:10 (polvo de *Ullucus tuberosus*: solución hidroalcohólica 70%). Se realizaron cuatro extracciones sucesivas recolectando todo lo filtrado en envases ámbar

Tabla 14.

Tabla 14. Elaboración de extractos hidroalcohólicos

MUESTRA	Cantidad de muestra seca y molida (g)	Cantidad de solvente (mL)	Concentración del extracto (g/mL)	Cantidad de extracto filtrado (mL)
Ullukullutu	200	2000	1/10	5600
Olluco	50	500	1/10	1400

Los datos que se muestran en las siguientes tablas fueron obtenidos luego de realizar tres decantaciones por agotamiento **Anexo 19** y las respectivas operaciones de evaporación hasta la obtención de precipitados tanto de la subespecie Ullukullutu **Tabla 15, 16 y 17**, así como de la subespecie Olluco **Tabla 18, 19 y 20**.

Los colores de los precipitados (saponinas crudas) fueron amarillo con tonalidad verdusca en Ullukullutu, mientras que en el caso de Olluco se observó precipitado color blanco amarillento **Anexo 20**.

Tabla 15. Primera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Ullukullutu

DECANTACIÓN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO - ULLUKULLUTU (1° VEZ)								EVAPORACIÓN - ULLUKULLUTU (1 VEZ)	
Embudo de decantación N°	Cantidad de extracto	Cantidad de agua incorporada	Agitación	Cantidad de N-butanol incorporado	Agitación	Tiempo de separación de fases	Fase acuosa I (mL)	Fase n-butanólica I (mL)	Cantidad de saponinas crudas I (g)
1	30 mL	20 mL	5 min	50 mL	10min	3 h 58 min	50 mL	50 mL	0,14 g

Tabla 16. Segunda decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Ullukullutu

DECANTACIÓN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO - ULLUKULLUTU (2° VEZ)							EVAPORACIÓN - ULLUKULLUTU (2° VEZ)	
Embudo de decantación N°	Fase acuosa I (mL)	Cantidad de N-butanol incorporado	Agitación	Tiempo de separación de fases	Fase acuosa II (mL)	Fase n-butanólica II (mL)	Tiempo de evaporación	Cantidad de saponinas crudas II (g)
1	50 mL	50 mL	10min	4 h	45 mL	55 mL	55 min	0,03 g

Tabla 17. Tercera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Ullukullutu

DECANTACIÓN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO - ULLUKULLUTU (3° VEZ)							EVAPORACIÓN - ULLUKULLUTU (3° VEZ)	
Embudo de decantación N°	Fase acuosa II (mL)	Cantidad de N-butanol incorporado	Agitación	Tiempo de separación de fases	Fase acuosa III (mL)	Fase n-butanólica III (mL)	Tiempo de evaporación	Cantidad de saponinas crudas III (g)
1	45 mL	45 mL	10min	3 h	40 mL	50 mL	49 min	0,01 g

Tabla 18. Primera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Olluco

DECANTACIÓN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO - OLLUCO (1° VEZ)									EVAPORACIÓN - OLLUCO (1° VEZ)
Embudo de decantación N°	Cantidad de extracto	Cantidad de agua incorporada	Agitación	Cantidad de N-butanol incorporado	Agitación	Tiempo de separación de fases	Fase acuosa I (mL)	Fase n-butanólica I (mL)	Cantidad de saponinas crudas I (g)
2	30 mL	20 mL	5 min	50 mL	10min	3 h 41 min	30 mL	70 mL	0,22 g

Tabla 19. Segunda decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Olluco

DECANTACIÓN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO - OLLUCO (2° VEZ)							EVAPORACIÓN - OLLUCO (2° VEZ)
Embudo de decantación N°	Fase acuosa I (mL)	Cantidad de N-butanol incorporado	Agitación	Tiempo de separación de fases	Fase acuosa II (mL)	Fase n-butanólica II (mL)	Cantidad de saponinas crudas II (g)
2	30 mL	30 mL	6min	2 h 32 min	25 mL	35 mL	0,18 g

Tabla 20. Tercera decantación de extracto hidroalcohólico de tallos de Olluco

DECANTACIÓN EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO - OLLUCO (3° VEZ)							EVAPORACIÓN - OLLUCO (3° VEZ)
Embudo de decantación N°	Fase acuosa II (mL)	Cantidad de N-butanol incorporado	Agitación	Tiempo de separación de fases	Fase acuosa III (mL)	Fase n-butanólica III (mL)	Cantidad de saponinas crudas III (g)
2	25 mL	25 mL	5min	1 h 17 min	21 mL	29 mL	0,11 g

En la **Tabla 21** se da a conocer el contenido de saponinas crudas obtenidas a partir de las muestras de Ullukullutu y Olluco en sus diferentes condiciones (extracto, polvo y tallo seco).

Tabla 21. Contenido de saponinas crudas de *Ullucus tuberosus* por evaporación

MUESTRA	Cantidad de saponinas crudas	%Contenido saponinas crudas / 100 mL extracto	%Contenido saponinas crudas/100g polvo	%Contenido saponinas crudas/100g tallo fresco
Ullukullutu	0,18 g	0,592 %	5,920 %	0,590 %
Olluco	0,51 g	1,707 %	17,070 %	0,620 %

4.2 Evaluación de las características fisicoquímicas de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectadas de Huari-Áncash

4.2.1 Propiedades fisicoquímicas de extractos

Tabla n°22. Propiedades fisicoquímicas de extractos de tallos de *Ullucus tuberosus*

MUESTRA	pH	Densidad
Ullukullutu	7,16	0,8887 g/mL
Olluco	6,36	0,8945 g/mL

4.2.2 Marcha fitoquímica preliminar y pruebas de identificación de saponinas

En la **Tabla 23** se muestra los resultados de la marcha fitoquímica preliminar de los extractos de tallos de Ullukullutu y Olluco, **Anexo 22 y 23** respectivamente. En complemento, se realizaron pruebas de identificación específicas para saponinas, cuyos resultados se dan a conocer en la **Tabla 24** y se evidencian en el **Anexo 24 y 25** respectivamente.

Tabla 23. Resultados de la marcha fitoquímica de *Ullucus tuberosus*.

METABOLITO	REACTIVO	ULLUKULLUTU	OLLUCO
ANTOCIANINA	Prueba cualitativa	++	+
	Dragendorff	+	+
ALCALOIDE	Mayer	+	++
	Wagner	+	+
LACTONAS	Baljet	+++	++
FLAVONOIDES	Shinoda	-	-
AMINOÁCIDOS	Ninhidrina	+	++
CARDENÓLIDOS	Kedde	++	+
ESTEROIDES	Liebermann-Burchard	+	+
SAPONINAS	Espuma	+	++
TANINOS	Cloruro férrico	++	++
TRITERPENOS	Liebermann-Burchard	+	+
AZÚCARES REDUCTORES	Fehling	-	-
FENOLES	Cloruro férrico	++	++

Leyenda. “-”: reacción negativa, “+”: reacción positiva leve, “++”: reacción positiva media, “+++”: reacción positiva intensa.

Tabla n°24. Pruebas específicas para saponinas, en *Ullucus tuberosus*

METABOLITO	REACTIVO	ULLUKULLUTU	OLLUCO
SAPONINAS	Reactivo Noller	+++	++
	Reactivo Rosenthaler	++	+
	Reactivo tricloroacético	+	++
	Reactivo vainillina HCl 1%	+	+

Leyenda. “-”: reacción negativa, “+”: reacción positiva leve, “++”: reacción positiva media, “+++”: reacción positiva intensa.

4.3 Comparación del efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos obtenidos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash

4.3.1 Cuantificación de saponinas de los extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus*

4.3.1.1 Elaboración de la curva de calibración de escina

Se registró las absorbancias de las soluciones preparadas del estándar Escina a diferentes concentraciones **Tabla 25**, y seguidamente se construyó la curva de calibración de absorbancia vs concentraciones del estándar. Asimismo, se calculó la ecuación de regresión lineal **Figura 27**.

Tabla 25. Datos de absorbancias para curva de calibración de estándar Escina

Estándar	Concentración (mg*L ⁻¹)	Potencia estándar	Concentración Real (mg*mL ⁻¹)	Absorbancias por triplicado (560nm)
(a)	15000	0,999	14,985	1,368
	15000	0,999	14,985	1,313
	15000	0,999	14,985	1,221
(b)	7500	0,999	7,493	0,627
	7500	0,999	7,493	0,787
	7500	0,999	7,493	0,776
(c)	3750	0,999	3,746	0,405
	3750	0,999	3,746	0,38
	3750	0,999	3,746	0,405
(d)	1875	0,999	1,873	0,155
	1875	0,999	1,873	0,179
	1875	0,999	1,873	0,163
(e)	937.5	0,999	0,937	0,101
	937.5	0,999	0,937	0,081
	937.5	0,999	0,937	0,064

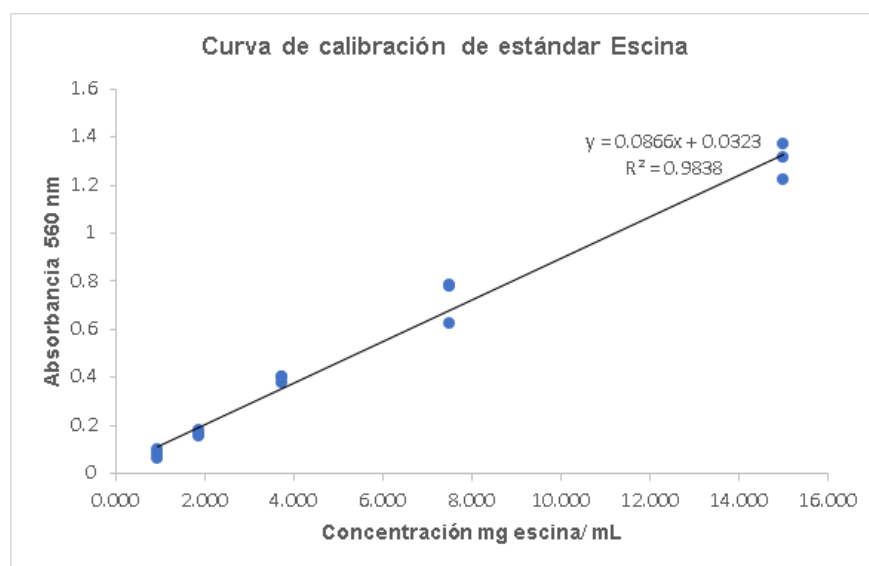


Figura 27 . Curva de estándar escina utilizando el método modificado de ácido sulfúrico- vainillina. **Fuente:** elaboración propia.

4.3.1.2 Determinación de contenido de saponinas en tallos de *Ullucus tuberosus*

En la siguiente **Tabla 26** se presenta las absorbancias registradas de las muestras de extractos de *Ullucus tuberosus*.

Tabla 26. Lecturas espectrofotométricas de muestras de *Ullucus tuberosus*

Tubos	Descripción	Absorbancia por triplicado 560 nm	Concentración (mg·mL ⁻¹)	Peso muestra (g)	Factor de dilución	Concentración (mg BH/g)	Humedad	Concentración (mg BS/g)	Promedio	SD	RSD
(1)	Blanco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(2)	Ullukullutu	0,151	1,37	10	0,01	13,714	0,92484	182,47	179	3,867	2,162
		0,149	1,35	10	0,01	13,483	0,92484	179,39			
		0,146	1,31	10	0,01	13,137	0,92484	174,78			
		0,206	2,01	10	0,01	20,067	0,96639	597,05			
(3)	Olluco	0,218	2,15	10	0,01	21,453	0,96639	638,29	644	50,076	7,776
		0,235	2,34	10	0,01	23,416	0,96639	696,71			

El contenido total de saponinas (TSC) de las muestras de los extractos de las subespecies de *Ullucus tuberosus*, calculado en base a la ecuación descrita en Metodología (Ver **sección 3.3.1.3.b**), se expresa a continuación en la **Tabla 27** y **28**.

Tabla 27. Contenido total de saponinas de muestras de *Ullucus tuberosus*

Muestra	Peso de saponinas en el extracto (mg)	Peso de polvo <i>Ullucus tuberosus</i> (g)	Contenido de humedad (%)	TSC (mg saponinas/g polvo seco)
Ullukullutu	134,447 mg	10	92,484 %	179
Olluco	216,453 mg	10	96,639 %	644

Tabla 28. Porcentaje de contenido total de saponinas de muestras de *Ullucus tuberosus*

MUESTRA	%Contenido saponinas crudas / 100 mL extracto	%Contenido saponinas crudas/100g polvo	%Contenido saponinas crudas/100g tallo fresco
Ullukullutu	1,789 %	17,9 %	1,782 %
Olluco	6,440 %	64,4 %	2,338 %

El TSC fue expresado como mg equivalentes de escina por gramo de peso de polvo seco de *Ullucus tuberosus*. Por tanto, Ullukullutu contiene 179 mg de saponinas por gramo de peso de polvo seco y Olluco, 644 mg.

4.3.2 Determinación del nivel de espuma

Según la Norma INEN 0831²⁸, los resultados se expresan con la media aritmética. A continuación, se presenta la **Tabla 29** con los resultados obtenidos luego de realizada la prueba **Anexo 27**.

Tabla 29. Nivel de espuma de tensioactivos

TENSIOACTIVOS A 0.1%	Tiempos	V1	V2	V	\bar{x}
SLS	T(0min)	316.7 mL	30.0 mL	286.7 mL	186.7 mL
	T(1min)	308.8 mL	48.0 mL	260.8 mL	
	T(2min)	275.9 mL	50.0 mL	225.9 mL	
	T(5min)	150.0 mL	50.0 mL	100.0 mL	
	T(15min)	110.0 mL	50.0 mL	60.0 mL	
Lauril éter sulfato de sodio	T(0min)	160.0 mL	40.0 mL	120.0 mL	71.8 mL
	T(1min)	154.0 mL	49.0 mL	105.0 mL	
	T(2min)	146.0 mL	50.0 mL	96.0 mL	
	T(5min)	80.0 mL	50.0 mL	30.0 mL	
	T(15min)	58.0 mL	50.0 mL	8.0 mL	
Cocamidopropil betaina	T(0min)	156.0 mL	24.0 mL	132.0 mL	104.1 mL
	T(1min)	152.0 mL	45.0 mL	107.0 mL	
	T(2min)	150.0 mL	46.5 mL	103.5 mL	
	T(5min)	145.0 mL	48.0 mL	97.0 mL	
	T(15min)	130.0 mL	49.0 mL	81.0 mL	
Cocoglucoside	T(0min)	210.0 mL	22.0 mL	188.0 mL	152.8 mL
	T(1min)	194.0 mL	42.0 mL	152.0 mL	
	T(2min)	194.0 mL	48.0 mL	146.0 mL	
	T(5min)	190.0 mL	48.5 mL	141.5 mL	
	T(15min)	186.0 mL	49.5 mL	136.5 mL	
Saponinas crudas Ullukullutu	T(0min)	52.0 mL	48.0 mL	4.0 mL	2.7 mL
	T(1min)	52.0 mL	48.0 mL	4.0 mL	
	T(2min)	51.0 mL	48.0 mL	3.0 mL	
	T(5min)	50.5 mL	49.0 mL	1.5 mL	
	T(15min)	50.4 mL	49.5 mL	0.9 mL	
Saponinas crudas Olluco	T(0min)	54.0 mL	50.0 mL	4.0 mL	1.2 mL
	T(1min)	52.0 mL	50.0 mL	2.0 mL	
	T(2min)	50.0 mL	50.0 mL	0.0 mL	
	T(5min)	50.0 mL	50.0 mL	0.0 mL	
	T(15min)	50.0 mL	50.0 mL	0.0 mL	

Cabe mencionar que se realizaron pruebas preliminares con los extractos hidroalcohólicos de los tallos de ambas subespecies de *Ullucus tuberosus*; sin embargo, no se evidenció formación de espuma.

En la **Figura 28** se puede apreciar mediante barras, la diferencia del nivel de espuma generada por los diferentes tensioactivos presentados en la tabla anterior:

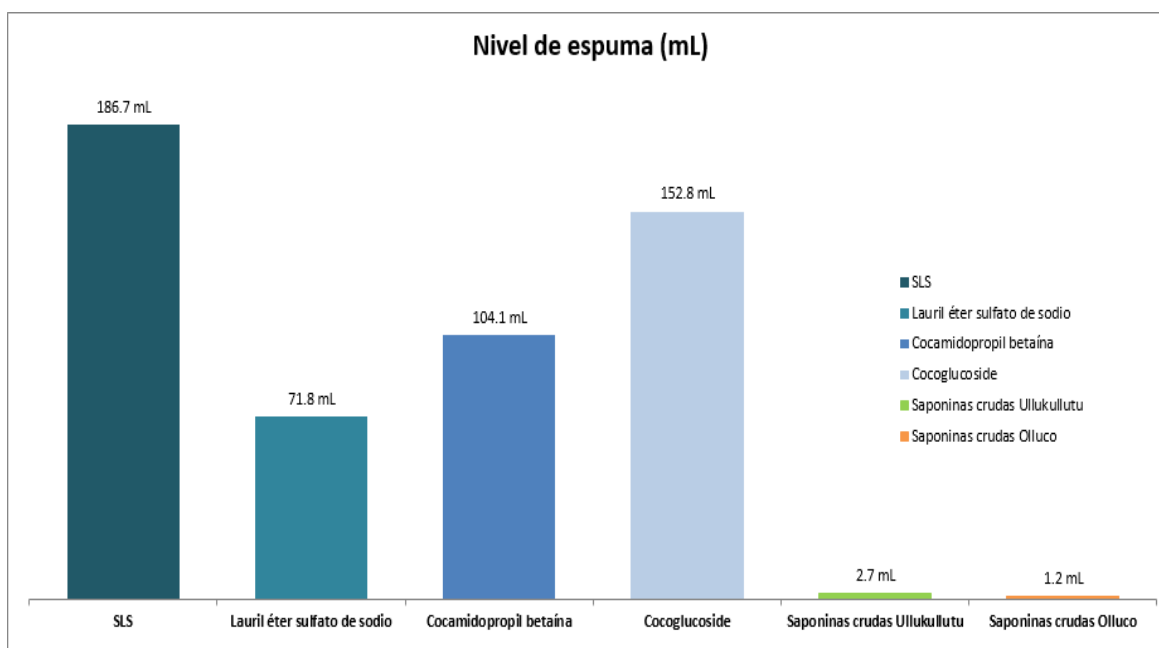


Figura 28. Nivel espumante de tensioactivos al 0,1%. **Fuente:** elaboración propia.

Entre las seis sustancias evaluadas, el SLS (lauril sulfato de sodio) clasificó como la solución al 0,1% con mayor nivel de espuma. La altura espumante de la solución al 0,1% de las saponinas crudas del tallo de Ullukullutu fue el 1,4 % de SLS al 0,1%; 3,7 % del Lauril éter sulfato de sodio al 0,1%; 2,6% de la Cocamidopropil betaina al 0,1% y 1,8% del Cocoglucoside al 0,1%. Respecto a nivel de espuma generado por la solución al 0,1% de las saponinas crudas del tallo de Olluco fue el 0.6% de SLS al 0,1%; 1,7 % del Lauril éter sulfato de sodio al 0,1%; 1,2% de la Cocamidopropil betaina al 0,1% y 0,8% del Cocoglucósido al 0,1%.

En la presente **Figura 29** se puede apreciar el aspecto general de las curvas obtenidas que representan el comportamiento del nivel de espuma generada por las soluciones tensioactivas. Se logra identificar un comportamiento similar de constancia de espuma generada por las soluciones de Cocoglucoside al 0,1% (-■-) y Cocamidopropil betaína (-△-) respecto al de las soluciones al 0,1% de las saponinas crudas del tallo de Ullukullutu (-○-) y Olluco (-▲-).

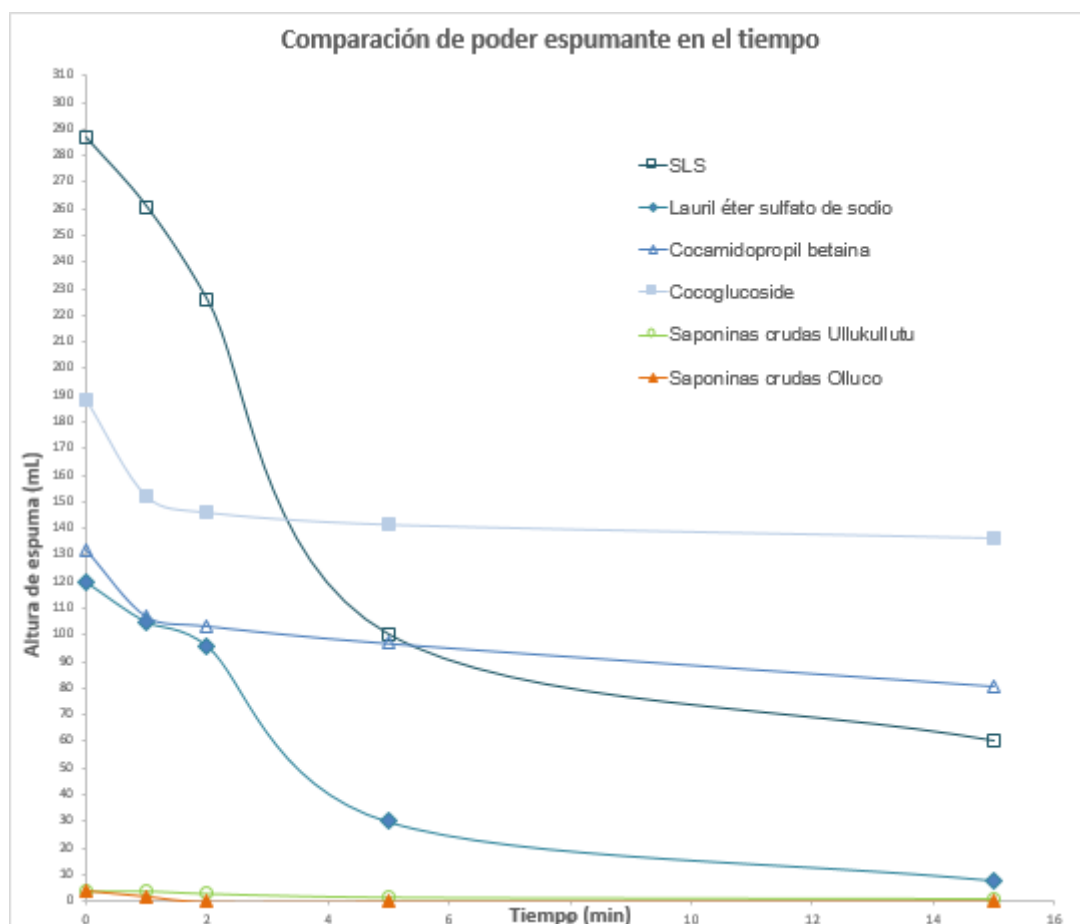


Figura 29. Comparación de poder espumante de soluciones tensioactivas al 0,1%.
Fuente: elaboración propia.

En complemento a lo mostrado en la **Figura 28**, en la **Tabla 30** se dan a conocer los valores R5 los cuales representan la proporción existente entre la altura de la espuma desde el minuto 0 hasta los 5 minutos. Valores de R5 superiores al 50% permiten calificar a la espuma como metaestable⁵², por tanto se refleja una buena estabilidad de la espuma frente al tiempo para las soluciones de Cocamidopropilbetaina al 0,1% y Cocoglucoside al 0,1%;

mientras que las soluciones al 0,1% de SLS, la de Lauril éter sulfato de sodio y de saponinas crudas de tallo de Ullukullutu no podrían recibir dicha calificación, pero cabe destacar entre ellas al Ullukullutu como sobresaliente frente a este grupo. Siguiendo con esta premisa, un R5 de valor 0 nos indica que la espuma no es estable en el tiempo, este es el caso de la solución al 0,1% de saponinas crudas de tallo de Olluco, lo cual expresa numéricamente lo observado durante la realización de la prueba (espuma que desaparece pasado el minuto de reposo y que tiende a posicionarse en el borde de la probeta en forma de anillo).

Tabla 30. Altura de espuma generada por tensioactivos en etapa inicial y después de 5 min.

TENSIOACTIVOS AL 0,1%	Altura de espuma (mL)		R5*
	0 min	5 min	
SLS	285,8 ± 0,67	100,1 ± 0,51	35%
Lauril éter sulfato de sodio	120,7 ± 0,66	30,3 ± 0,58	25%
Cocamidopropil betaína	132,5 ± 0,56	98,0 ± 0,85	74%
Cocoglucoside	181,1 ± 0,75	141,6 ± 0,95	75%
Saponinas crudas Ullukullutu	4,0 ± 0,15	1,5 ± 0,25	38%
Saponinas crudas Olluco	4,0 ± 0,00	0,0 ± 0,00	0%

**R5 es la proporción de la altura de la espuma hasta los 5 minutos desde el minuto 0
Los datos están expresados como la media ± SD de tres experimentos independientes*

V. DISCUSIÓN

La extracción de saponinas por el método convencional involucra el uso de soluciones metanólicas o acuosas⁵³, seguidas por evaporación del alcohol, disolución en cantidad mínima de agua y luego extracción líquido-líquido con n-butanol^{13, 53, 54}. Lo citado sirvió de base para el desarrollo del método realizado en la presente investigación^{14,46-49}, en la cual se maceró polvo de tallos de *Ullucus tuberosus* con solución hidroalcohólica al 70%, en proporción 1:10. Este proceso fue llevado a cabo a temperatura ambiente, con el fin de evitar la desintegración por calor de las formas aciladas de las saponinas¹³; cabe resaltar que se encontró que la temperatura de extracción debe ser menor a 60°C para garantizar la integridad de dichos metabolitos⁵⁵. Esto se complementa con lo indicado por Lozano M.; 2010⁵⁶, quien eligió la técnica de maceración a temperatura ambiente puesto que las saponinas son termolábiles, capaces de sufrir hidrólisis sobre los 70 °C. Siguiendo lo establecido en la metodología, se logró evidenciar la presencia de saponinas en tallos de *Ullucus tuberosus* en las subespecies silvestre Ullukullutu y cultivada Olluco, representando 5,920% y 17,070% de saponinas crudas en polvo de tallos, respectivamente.

Con el fin de comparar los resultados obtenidos se mencionan diversos estudios de extracción de saponinas. A partir de tubérculos de *Chlorophytum borivilianum*, se evaluaron los solventes de extracción de saponinas agua, metanol y butanol, siendo este último el que extrajo un mayor porcentaje (0,76% \pm 0,017) comparado al agua (0,74% \pm 0,010) y al metanol (0,45% \pm 0,030), además, se resalta la importancia tanto del tamaño de partícula (para que otorgue una adecuada área superficial expuesta al solvente), el tiempo de contacto del polvo con el solvente (acotando que en caso se emplee agua, el tiempo prolongado puede resultar en contaminación microbiana o fúngica, por lo que se limita a 20 horas) así como el método de secado, hallándose un % w/w de saponinas menor en el extracto elaborado por secado en bandejas (0,97% w/w \pm 0,001) comparado al de spray drying (1,21 % w/w \pm 0,002) y freeze drying (1,22 % w/w \pm 0,002)⁵⁵. Para la extracción de saponinas en granos de cañihua se evaluaron dos solventes en

diferentes proporciones y se calculó el rendimiento de extracción en medio alcohólico y acuoso, obteniéndose un mayor valor en éste último, además fue escogido porque el etanol inhibe el índice de espuma y tiene la capacidad de extraer otras moléculas que muestran absorbancia a la longitud de onda de 528 nm interfiriendo de esta manera con lecturas para pruebas cuantitativas, asimismo, se valoraron parámetros de extracción como tiempo de agitación, relación porcentual de solventes EtOH/H₂O y relación masa de cañihua/volumen de solvente, precisándose como mejores resultados un tiempo de agitación de 24 horas, relación masa de cañihua/volumen de solvente de 1/20, como solvente agua destilada y como método de extracción la agitación continua de las muestras a temperatura ambiente⁵⁷. De las hojas de *Yucca elephantipes* se extrajeron saponinas esteroidales mediante el empleo de solventes de distinta polaridad, iniciando con los de naturaleza apolar a fin de eliminar interferentes tales como componentes grasos y pigmentos, para finalmente utilizar mezclas de solventes polares, entre ellos etanol/agua y butanol/agua debido a la naturaleza polar de las saponinas; de este modo se llegó a cuantificar un contenido promedio de saponinas esteroidales de 1,1556% \pm 0,2108, es decir, 11,6 veces el valor de 0,1% (porcentaje mínimo para la elaboración industrial de hormonas sexuales, corticosteroides y vitamina D); esta cuantificación gravimétrica fue comparada con la del tipo espectrofotométrico realizado con anterioridad a dicho estudio, identificando una notable diferencia (entre 9,5 a 10%), evaluándose así los factores que puedan justificar dicha divergencia de resultados: la higroscopicidad, la alta polaridad de las saponinas y su capacidad de generar abundante espuma en medio acuoso, lo cual dificulta la concentración de los extractos y la separación por coeficiente de partición líquido-líquido; por lo que se recomienda separar la mayor cantidad de veces posible garantizando la extracción de la mayor cantidad de saponinas y estas no permanezcan en la fase acuosa; adicionalmente este estudio justifica la variación de resultados producto de diferencias en cuanto al sitio de recolección, época de recolección, así como condiciones ambientales⁵⁸. Lozano M *et-al.* cuantificó saponinas a partir del mojuelo de *Chenopodium quinoa* Wild y determinó mayor extracción mediante el

uso de solventes EtOH/H₂O al 50 % (en comparación a 75%, 50%, 25% y 0% de etanol), macerando a temperatura ambiente por 72 horas y con una relación de 1/9 (mojuelo / volumen solvente), comparando dichos factores y su impacto en el contenido de saponinas determinadas por UV (528 nm), Espuma y HPLC, además, hizo hincapié que el mayor porcentaje de agua en el sistema de solventes dificulta su evaporación; luego de concentrado el extracto y evaporado el solvente etanol a presión reducida, se almacenó el residuo acuoso a -18°C por 24 horas y a -80°C por 3 horas para ser liofilizado por 72 horas obteniéndose un extracto seco⁵⁶. De *Sapindus saponaria* L (boliche) se prepararon extractos por maceración del pericarpio, el proceso de desengrasado se realizó con éter de petróleo previo a la maceración y los solventes evaluados fueron agua y etanol/agua (50/50), se filtraron al vacío, concentraron a la tercera parte de su volumen mediante rotavapor, se extrajeron tres veces con n-butanol y finalmente fueron secados en una estufa con recirculación de aire por 24 horas para obtener saponinas crudas, cuyo color característico se describe como ámbar de consistencia viscosa⁵⁹ y café claro⁶⁰; resultando un mayor rendimiento en extractos acuosos, en los cuales se obtuvieron 78,78% y 75,93% con un tiempo de extracción de 72 y 48 horas, respectivamente⁵⁹. Dicha especie vegetal también fue investigada por Tomás G.; 2010⁶¹, quien utilizó la cáscara, de la cual se extrajeron saponinas mediante dos métodos, en el primero se llevó a cabo una maceración con etanol al 70% a temperatura ambiente por duplicado, para luego ser concentrado hasta conseguir un residuo siruposo el cual se disuelve en agua y se extrae con n-butanol, siendo esta fase la que se evapora para obtener un residuo sólido que representa el extracto bruto de saponinas; en el otro método se desengrasó la muestra con cloroformo y seguidamente se extrajo con etanol en un equipo soxhlet para continuar con la concentración del solvente, disolución con agua, extracción con n-butanol y se agregó sulfato de sodio anhidro; si bien mediante ambos métodos se consiguió un extracto bruto de saponinas (el que posteriormente se hidroliza con HCl 2N resultando cristales pardos que al ser recrystalizados con acetato de etilo adquieren un color blanco transparente), se

obtuvo mayor porcentaje de saponinas crudas (del tipo triterpénica) empleando el segundo método de extracción (2,15%), en comparación al primero (1,75%).

En base a los diversos parámetros de extracción detallados, se sugiere realizar variaciones tanto en el procesamiento de la muestra, desengrasando previamente a la maceración⁶¹ con empleo de solventes lipofílicos como acetato de etilo o n-hexano¹³; así como mejoras en el método de extracción a fin de optimizar el rendimiento de obtención de saponinas en los extractos elaborados a partir de tallos de *Ullucus tuberosus*, entre ellas, tipo de secado, control de tamaño de partícula mediante tamizado, variación de distintos sistemas de solventes de extracción, temperatura y tiempo de maceración. Respecto a las diferencias en valores obtenidos por gravimetría y espectrofotometría, estas podrían ser justificadas por el uso de n-butanol ya que se conoce que éste sólo atrae a las saponinas de cadenas cortas de oligosacáridos⁵³; asimismo, sería necesario realizar el mayor número de decantaciones con el objetivo de arrastrar todo lo contenido en la fase acuosa y aumentar así el rendimiento.

En complemento a las propuestas de optimización de extracción, se recomienda evaluar el uso nuevas tecnologías descritas en la literatura, pues existen métodos actuales para la extracción de saponinas entre ellas extracción asistida por microondas (MAE) y ultrasonido (UAE). Se han aplicado dichos métodos para la extracción de ginsenósidos de polvo de ginseng, obteniéndose un rendimiento máximo de saponina de 7,4 mg / 100 mg peso seco en 6 minutos mediante MAE (100 mg de muestra: 15 ml de n-butanol saturado de agua, 50 °C), en comparación a 7,7 mg / 100 mg peso seco durante un procesamiento pero de 8 h empleando Soxhlet (100 mg de muestra: 80 mL de MeOH, 70 °C), 6,7 mg / 100 mg peso seco en 6 h de extracción por reflujo de calor (100 mg de muestra: 15 mL de MeOH, 70 °C) y 7,6 mg / 100 mg peso seco durante 2 h de extracción ultrasónica (100 mg de muestra: 15 ml de n -butanol saturado de agua)¹³.

Posterior a la extracción, se llevó a cabo el tamizaje fitoquímico cuyos resultados indican que el tallo de la subespecie Ullukullutu (U) presenta mayor contenido de antocianinas, lactonas y cardenólidos, en comparación con los tallos de la

subespecie Olluco (O), en la cual predominan los alcaloides, los aminoácidos y las saponinas; cabe señalar además la presencia de esteroides, triterpenos, taninos y fenoles en ambas subespecies, mas no presentan flavonoides ni azúcares reductores. Quispe N. y Blácido Z; 2018, estudiaron tubérculos de *Ullucus tuberosus* Caldas “olluco” (recolectados de Huánuco-Perú), donde coinciden con la presencia de los metabolitos mencionados en este estudio; no obstante, indican que en el tubérculo existen flavonoides y carbohidratos⁶², los cuales no se encontraron en los tallos.

Es necesario subrayar, el posible contenido de vitamina C en tallos de *Ullucus tuberosus* ya que sí se registra su presencia en los tubérculos⁶². Otras investigaciones adicionales hacen hincapié en la capacidad antioxidante de *Ullucus tuberosus*, es así que mediante métodos ABTS y FRAP se ha comprobado esta actividad y presencia de compuestos fenólicos en tubérculos de olluco rosado⁶³. Zavaleta J. *et-al.* menciona la presencia del flavonoide rutina (142.22 ug/g) y concentraciones menores de ácido clorogénico en el tubérculo de olluco; esto resulta de importancia ya que numerosos estudios han evaluado la capacidad antioxidante de los flavonoides frente a los radicales libres, considerándose a la rutina seguida de la quercetina como los secuestradores más fuertes de radicales libres⁶⁴. Adicionalmente, el estudio realizado por Mejía F, *et-al.* demostró mediante DPPH y ABTS la propiedad antioxidante de hojas, tallos y tubérculos de *Ullucus tuberosus* (Valle de Cauca - Colombia)⁶⁵ entre 18,89 y 60,96%, planteando que esta actividad en tubérculos se debe al contenido de betalainas en forma ácida de betaxantinas y betacianinas⁶⁶; en las hojas, a la presencia de flavonoides, y en contribución a dicho estudio podemos proponer que la actividad antioxidante en el tallo de esta especie se atribuye al contenido de antocianinas, ya que estas comprenden el grupo de sustancias bioactivas denominadas compuestos fenólicos⁶⁷.

Se conoce que las reacciones de coloración poseen gran importancia en la identificación de diversos metabolitos, por ello en este estudio de tallos de *Ullucus*

tuberosus se llevaron a cabo reacciones complementarias a la de Liebermann - Büchard, la que identificó saponinas triterpénicas al resultar una tonalidad rosada dentro del rango rosado - púrpura^{50, 54}, a fin de centrarse en la identificación específica de saponinas en esta especie vegetal según su genina; es así que se utilizó el Reactivo de Nöller el cual es específico para saponinas triterpénicas al presentar cambios de coloración en los siguientes 60 minutos (U: amarillo intenso, O: coloración amarilla), el R. Rosenthaler que resulta en coloraciones amarillo rojizo y/o violeta⁵⁹ (U: amarilla translúcida, O: coloración amarilla translúcida tenue), el R. tricloroacético da coloración que va del naranja al rojo (U: lig. anaranjada opalescente, O: verde azulada opalescente) y el R. Vainillina-HCl al 1% con el cual en presencia de sapogeninas presentan coloraciones variables (U: sol. opalescente lig. azuladas O: colocación ligeramente violácea en la parte superior).

Tales diferencias de metabolitos encontrados en tallos y tubérculos de *Ullucus tuberosus* guarda relación con factores extrínsecos e intrínsecos que afectan el contenido químico de cada órgano de las plantas tales como la edad de la planta, el clima, la temperatura, la luz, la humedad, la altitud y/o factores de origen biológico⁶⁸.

Identificada la presencia de saponinas en los tallos de *Ullucus tuberosus*, se procedió con su cuantificación por espectrofotometría cuyo principio básico es la reacción entre un aldehído aromático con un ácido mineral fuerte^{69, 54}, resultando productos coloreados al reaccionar con las saponinas y/o sapogeninas a nivel del grupo OH en C3 en forma libre o glicosilada⁷⁰, obteniéndose una coloración que va del rojo al morado³³. Si bien estos cromóforos son característicos, no todos absorben a la misma longitud de onda⁷¹. No obstante, estos son medibles en el rango de 473 a 560 nm³³. Esta reacción se evidenció en las muestras vegetales de tallos de *Ullucus tuberosus*, entre sus saponinas (oxidadas y deshidratadas por el ácido sulfúrico) con vainillina, dando un color verde oscuro rojizo tenue, medido a 560 nm. Cabe mencionar que se consideró al solvente etanol 70% como blanco, y fue evaporado de los extractos (antes de incorporar la vainillina y el ácido

sulfúrico) para descartar una posible reacción de color que no se deba a las saponinas. Tal como se describe líneas arriba, se aplicó un método mejorado de la reacción con ácido sulfúrico y vainillina para cuantificar saponinas totales descrito por Le A; 2018³³, con la variante del disolvente evaporado. En base al método ejecutado, se corroboró la presencia de saponinas en *Ullucus tuberosus*, lográndose cuantificar en tallos de Ullukullutu $179 \pm 3,9$ mg de saponina triterpenoide/g polvo seco y en tallo de Olluco $644 \pm 50,1$ mg de saponina triterpenoide/g polvo seco; la diferencia de contenido de saponinas entre ambas variedades confirma que las saponinas del tipo triterpenoide predominan en la forma cultivada⁷², en este caso, en Olluco comparado con la subespecie silvestre Ullukullutu.

Si bien no existen estudios de evaluación química de tallos de *Ullucus tuberosus* en la literatura, convirtiéndose este en el primero, sí se ha reportado presencia de saponinas pero en el tubérculo de dicha especie⁴⁰. Según Lim T.⁴⁰, se aislaron dos saponinas triterpenoides de *Ullucus tuberosus*, 28-O- β -D-glucopyranosyl-epihederagenine y 28-O- β -D-glucopyranoside-3-O- β -D-glucopyranosyl(1 \rightarrow 2')- β -D-glucopyranosyl-oleanoate. Asimismo, existe un estudio en el que se han aislado tres saponinas triterpenoides identificadas como **tuberósido A**: sodium/ choline salt of 28-O-[β -D-glucopyranosyl]3-O-[β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glucuronopyranosyl] oleanolate, **tuberósido B**: sodium/ choline salt of 28-O-[β -D-glucopyranosyl]3-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-{ β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)}]- β -D-glucuronopyranosyl]oleanolate, y **tuberósido C**: sodium/choline salt of 28-O-[β -D-glucopyranosyl]3-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-{ β -D-glucopyranosyl-(1 \rightarrow 4)}]- β -D-glucurono- pyranosyl]-23- hydroxyoleanolate⁴¹. Los tres tuberósidos mencionados, fueron cuantificados obteniéndose 15 mg a partir de 1.5 Kg de tubérculos frescos equivalente a 0,001%; porcentaje notablemente menor comparado al contenido total de saponinas triterpenoides calculado en tallos frescos de Ullukullutu (1,782%) y Olluco (2,338%). Otro género de la familia Basellaceae en el que se ha encontrado presencia de saponinas, es en las hojas de *Boussingaultia baselloides* H. B. K. (syn.: *Anredera baselloides*), de las cuales se aislaron cuatro saponinas triterpenoides **boussingoside A1**: 3-O-[β -D-glucuronopyranosyl]-30-

norolean-12,20(29)-dien-28-oic acid, **boussingoside A2**: 3-O-[β-D-glucuronopyranosyl]-30-norolean-12,20(29)-dien-28-O-[β-D-glucopyranosyl] ester, **boussingoside B**: 3-O-[β-D-glucopyranosyl]-30-norolean-12,20(29)-dien-23-hydroxy-28-O-[β-D-glucopyranosyl]ester y **boussingoside C**: 3-O-[β-D-glucurono-pyranosyl]-30-norolean-12,20(29)-dien-23-hydroxy-28-oic acid. El contenido de los cuatro boussingosides aislados fue de 208 mg de un total de 200g de hojas, lo que representa un 0,104 % de saponinas triterpenoides⁷³. Adicional a ello, otro estudio de la misma especie fue llevado a cabo, en el cual se aisló una nueva saponina triterpenoide del extracto metanólico preparado a partir de las hojas secadas al aire libre de *Boussingaultia baselloides*, cuya estructura fue identificada de la siguiente forma **D1**: 3-O-[β-D-xylopyranosyl]-(1→3)-O-β-D-glucuronopyranosyl]-30-noroleana-12,20(29)-dien-28-oic acid, reportándose 31 mg de **boussingoside D1** contenido en 200 g de hojas equivalente a 0,0155 %⁷⁴. Confirmada la presencia de saponinas triterpenoides en hojas de *Boussingaultia baselloides* H. B. K, se mostró interés científico en investigar sus tubérculos, data posterior indicó el aislamiento de una nueva saponina triterpenoide, el **boussingoside E**, sal de sodio/colina de 3-O-[β-D-glucuronopyranosyl]-20(29)-ene-30-norhederagenin 28-O-(β-D-glucopyranosyl) ester; asimismo, se identificó la presencia de quinoasaponin-9 que en conjunto representan 0,00627%⁷⁵. En base a los datos mencionados, se deriva que *Boussingaultia baselloides* presenta mayor contenido de saponinas triterpenoides en sus hojas comparado a lo aislado en sus tubérculos; sin embargo, estos últimos presentan mayor porcentaje de contenido de saponinas en comparación a los tubérculos de *Ullucus tuberosus*. Es importante resaltar la presencia de saponinas bajo la forma de sal de colina (catión unido al ácido glucurónico que forma parte de la glicona), tanto en tubérculos de *Boussingaultia baselloides* como en *Ullucus tuberosus*, mas no se evidencia la presencia de colina en las partes aéreas de *Boussingaultia baselloides*⁷⁵; por lo que se podría suponer que esta característica también se cumple en tallos de *Ullucus tuberosus* recalando que dicha relación aún no se encuentra justificada y se sugiere continuar con estudios de aislamiento e identificación química en investigaciones posteriores.

Existen numerosos factores que influyen en la síntesis de saponinas en plantas, entre ellos, variedad, edad, estado fisiológico, área geográfica⁶⁹, presencia de patógenos, condiciones de estrés (humedad, inanición, luz y temperatura). Su distribución varía enormemente entre especies de plantas y en órganos y tejidos de una misma planta, además, se encuentran tanto en plantas silvestres como en cultivadas, siendo las saponinas triterpenoides predominantes en estas últimas⁷². En complemento, Teng H; 2009, plantea la hipótesis de que las saponinas se acumulan principalmente en el parénquima de órganos vegetativos (tallos, hojas, raíz)⁷⁶. También podemos mencionar ejemplos como el *Panax ginseng* en el que la síntesis de saponinas se produce en la parte subterránea, mientras que en *Centella asiática* esto se da en la parte aérea específicamente hojas⁷⁷; por lo antes expuesto se evidencia que las saponinas, como otros metabolitos secundarios, varían su distribución notablemente de acuerdo a la parte de la planta, prevaleciendo en aquellos organelos que tienen un metabolismo dinámico⁷⁰; ello explicaría las diferencias en porcentaje encontradas tanto en hojas y tubérculo de *Boussingaultia baselloides* H. B. K, así como en el tubérculo y tallo de *Ullucus tuberosus*.

Además de la familia Basellaceae, se ha identificado la presencia de saponinas en otras familias, tal es el caso de Cucurbitaceae, Caprifoliaceae,⁸⁵ Amaranthaceae, Sapindaceae y Araliaceae. En la familia Cucurbitaceae, se ha reportado un contenido de saponinas en semillas de Gac *Momordica cochinchinensis* Spreng donde informan un total de saponinas de $105,69 \pm 2,40$ mg de escina/g polvo seco, que resulta menor en comparación con lo obtenido en tallos de Ullukullutu ($179 \pm 3,9$ mg de escina/g polvo seco) y Olluco ($644 \pm 50,1$ mg de escina/g polvo seco)³³. En la familia Caprifoliaceae, se aislaron ocho saponinas triterpenoides de las bayas de *Lonicera nigra* L. por combinación de cromatografía de contracorriente de gotas y cromatografía en columna sobre sílice, siendo cinco de ellas del tipo monodesmosídicas a las cuales se les atribuyó actividad molusquicida⁷⁸. En la familia Amaranthaceae, se ha realizado la cuantificación de saponinas de extractos acuosos de granos andinos, entre ellos, cañihua (*Chenopodium pallidicaule*) y quinua (*Chenopodium quinoa*) mediante el método

espectrofotométrico, siguiendo el protocolo de Monje y Raffaellie, en el cual se utilizó el reactivo Lieberman-Bürchard para formar productos coloridos medidos a 528 nm (longitud de onda máxima de absorción determinada luego del barrido con estándar), obteniéndose como resultado en cañihua valores entre 8,7 a 43,2 mg/g y en quinua, 36,1 mg/g⁵⁷. *Chenopodium quinoa* Willd también fue analizada por Lozano *et. al.* quien cuantificó saponinas en residuos de quinua real y a partir del extracto hidroalcohólico al 50% obtuvo tres resultados de análisis de saponinas muy cercanos por diferentes metodologías; $58,5 \pm 1,6$ % p/p por UV-528nm, $57,0 \pm 1,0$ % p/p por espuma y $56,7 \pm 0,2$ % p/p por HPLC⁵⁶. En la familia Sapindaceae, se analizó el pericarpio de los frutos de *Sapindus saponaria*, reportándose concentraciones de saponinas que ascienden a 80.618 mg/g de muestra, mediante HPLC y por método espuma 85,1184 mg/g de muestra⁵⁹. En los últimos dos estudios mencionados, se evaluaron los resultados obtenidos por diferentes metodologías, y por la cercanía de los valores permite considerar a estos métodos como contrastables.

Las dos especies más conocidas comercialmente por su alto contenido de saponinas son *Yucca schidigera* (Agavaceae) y *Quillaja saponaria*¹³. Según la literatura, el contenido de saponinas totales de tallo / corteza de *Yucca schidigera*, evaluado por el método HPLC/ ELSD, es del 10-13% de saponinas totales en polvo, con prevalencia del tipo esteroidal^{79,11}; asimismo, se ha estudiado el contenido de saponinas de corteza de *Quillaja saponaria*, reportándose 1,2% y 2,2% del peso seco, resultados que difieren con lo estipulado por otros autores quienes declaran valores entre 6,5% y 15,8% de peso seco⁸⁰.

Realizada la revisión sistemática de numerosos estudios, se puede afirmar que los porcentajes de saponinas, evaluados por espectrofotometría, en tallos de Ullukullutu (17,9%) y Olluco (64,4%), subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* respectivamente, son mayores a lo encontrado en diversas familias en las que se reportan presencia de saponinas. Cabe resaltar que si bien no se han obtenido valores similares al evaluar el contenido de saponinas crudas mediante el

método de decantación-evaporación de Ullukullutu (5,920%) y Olluco (17,070 %) respecto a polvo seco, sí se evidencia la existencia de estos metabolitos, así como la prevalencia en la subespecie cultivada.

Habiéndose comprobado el efecto tensioactivo de los tallos de *Ullucus tuberosus* al identificar cuali-cuantitativamente la presencia de saponinas, se buscó evaluar también su capacidad de formación de espuma. Según los resultados obtenidos se observó un comportamiento similar de constancia de espuma generada por las soluciones de Coco glucoside al 0,1% y Cocamidopropil betaína respecto al de las soluciones al 0,1% de las saponinas crudas del tallo de Ullukullutu y Olluco. Además, con el fin de evaluar la estabilidad de la espuma frente al tiempo, se calcularon los valores R5, calificándose como espuma metaestable a valores de R5 superiores al 50% y valores menores a este, califica a la espuma como de baja estabilidad⁵². Por tanto, se refleja espuma metaestable en las soluciones de Cocamidopropilbetaina al 0,1% y Coco Glucoside al 0,1%; mientras que las soluciones al 0,1% de SLS, de Lauril éter sulfato de sodio y de saponinas crudas de tallo de Ullukullutu no podrían recibir dicha calificación, destacándose entre ellas al Ullukullutu como sobresaliente frente a este grupo por tener un valor de R5 superior a las mencionadas. Siguiendo con esta premisa, un R5 de valor 0 nos indica que la espuma no es estable en el tiempo, este es el caso de la solución al 0,1% de saponinas crudas de tallo de Olluco, lo que corrobora lo observado durante la realización de la prueba.

Se considera el método de espuma como uno de los más sencillos y asequibles de realizar en un laboratorio con la instrumentación básica, el cual consiste en colocar muestra en una probeta, agitarla y la altura generada por la espuma proporciona una idea del posible contenido de saponinas en dicha muestra debido a sus propiedades tensioactivas⁵⁹, lo que ha conllevado al desarrollo de una Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria en la que se describe el método espumoso (incluyendo en ella una fórmula) para la determinación de saponinas aplicable a granos de quinua que generen espuma de 0,2 cm a 3,0 cm que equivaldría a un

contenido de saponinas entre 0,005 y 0,37 %⁸¹, cabe recalcar que distintos autores coinciden en que esta prueba es considerada presuntiva ya que hay otras sustancias que influyen en la formación de espuma^{59, 60}. Sin embargo, según el estudio realizado por Usiña K. al comparar el contenido de saponinas en el fruto de *Sapindus saponaria* L. por el método espumoso respecto a la cuantificación por HPLC, obtuvo resultados similares⁵⁹. Asimismo, el método de espuma ha sido utilizado en la cuantificación de saponinas con la variante de la elaboración de una curva de calibración con un estándar de saponinas y dicha metodología ya ha sido aplicada para evaluar el porcentaje de saponinas de quinua⁵⁶ y cañihua⁵⁷, observándose correlación en los valores obtenidos respecto a la cuantificación por espectrofotometría. Guzmán B. y Cruz D. optaron por la utilización de extractos acuosos debido a que el etanol es capaz de inhibir el índice de espuma⁵⁷; lo que justificaría los resultados obtenidos en las pruebas preliminares de generación de espuma de los extractos hidroalcohólicos de tallos de *Ullucus tuberosus*. Es importante señalar que algunos autores indican que la capacidad de generar espuma de las saponinas no está relacionada con su capacidad tensioactiva⁸², por lo cual sería necesario complementar con un análisis de habilidad detergente^{29,30} **Anexo 28**, que guarde relación con el alto contenido de saponinas cuantificado por espectrofotometría tanto en tallos de Olluco como en Ullukullutu.

La presente investigación basa el estudio de la especie *Ullucus tuberosus* en los principios del Biocomercio⁴², mediante un enfoque ecosistémico, habiendo cumplido con las responsabilidades sociales y ambientales pertinentes, evidencia de ello, se muestran los trámites realizados durante el periodo de investigación de dicha planta. Por tratarse de una especie nativa del Perú, se consultó la legislación nacional^{5, 83,84} **Anexo 4** y se contó con la participación de autoridades competentes que protegen especies oriundas del Perú. La evaluación del cumplimiento de los principios y criterios del Biocomercio se efectuó mediante una escala tipo Likert y la gráfica radial correspondiente. Respecto al **Principio 1** “Conservación de la Biodiversidad”, se observó cumplimiento alto sustentado en los trámites en autoridades competentes involucradas con la protección de especies vegetales (INIA, SERFOR), siendo el primer paso la obtención de los certificados

taxonómicos de las muestras recolectadas de las subespecies de *Ullucus tuberosus*, los cuales sirvieron como base para la presentación de la solicitud en SERFOR, cuyo producto fue la Resolución de Dirección General N° 382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS **Anexo 14**, y en los trámites por iniciarse en INIA **Anexo 15**. Debemos rescatar que SERFOR autoriza la extracción de recursos forestales silvestres con fines de investigación científica^{85, 86}; e INIA, por su parte, evalúa y aprueba las solicitudes de acceso a las especies cultivadas o domésticas continentales⁸³. Asimismo, la recolección de los tallos de las especies vegetales se realizó siguiendo el plan autorizado (proyecto de investigación), respetando la cantidad y la especie identificada en el espacio geográfico, sin generar daños a nivel ecosistémico, previa coordinación con el Alcalde y propietarios de las tierras. En cuanto al **Principio 2** “Uso sostenible de la Biodiversidad”, se identificó cumplimiento muy alto, al dar a conocer la posibilidad de elaborar extractos que contienen saponinas con actividad tensioactiva a partir de los tallos de *Ullucus tuberosus*, concediéndole una nueva aplicación, que antes no contaba con sustento científico. Esto favorecería el cultivo de *Ullucus tuberosus*, y el aprovechamiento tanto del tubérculo y los tallos de forma conjunta de modo sostenible sin afectar negativamente. Además, se buscó respetar las normativas necesarias comprometiéndonos en la participación de la protección y correcto uso de las especies vegetales. En complemento a lo mencionado, la presentación de este trabajo de investigación y su envío a SERFOR, es un aporte al conocimiento de la especie *Ullucus tuberosus*. En el **Principio 3** “Principio Distribución justa y equitativa de beneficios derivados del uso de la biodiversidad”, el cumplimiento fue medio, puesto que con el consentimiento informado dado al alcalde del Centro Poblado Huamantanga, y las coordinaciones respectivas; así como la destacada iniciativa del registro del conocimiento tradicional realizado en Indecopi (que a pesar de no obtenerse dicho registro pues el Centro Poblado Huamantanga no es reconocido como un pueblo indígena), sí se evidencia la consideración de la mayor cantidad de actores involucrados buscando el beneficio de los mismos. Asimismo, se averiguó la posibilidad de obtener un permiso de acceso con fines comerciales ante los organismos competentes INIA y SERFOR, el cual nos

otorgaría un permiso para su aplicación industrial o comercial que incluye la consigna de asignar el 10% de las ganancias a los pueblos indígenas amparado en la Ley n° 27811, que establece el régimen de protección de los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas vinculados a los recursos biológicos - Art. 7° y 8°⁵, pero por tratarse de un trabajo orientado a la investigación y no enfocado en generar ganancias monetarias, se limita a una solicitud de Contrato de Marco de Acceso, y que de comprobarse lo propuesto en la investigación sumado al interés comercial, este contrato estaría sujeto a renegociación (según Art. 26 de DS 003-2009-MINAM⁸³). Lo que sí se destaca es que mediante la generación de conocimientos plasmados en este estudio, se brinda información para que potenciales empresarios evalúen la inversión proponiendo un posible mercado en el rubro de tensioactivos comerciales de origen natural incluyendo la búsqueda de la distribución de beneficios justos y equitativos respetando el binomio biocomercio y ambiente⁸⁷. Con relación al **Principio 4** “Sostenibilidad socio-económica (de gestión, productiva, financiera y de mercado)”, se observó cumplimiento bajo, si bien al proponer un potencial y nuevo uso de la especie *Ullucus tuberosus* se otorga un valor agregado a su producción, lo que podría provocar un aumento de la capacidad productiva de la comunidad; en el presente estudio no se contempla el establecimiento de una organización, ni su rentabilidad financiera, ya que el objetivo principal de la investigación es la generación de conocimientos y evidencia científica del potencial nuevo uso de la especie *Ullucus tuberosus* como alternativa de tensioactivo en el mercado peruano y extranjero, ya que dentro de las tendencias internacionales, como en el mercado europeo, podría ser utilizado como un insumo potencial de productos BIO⁸⁷. La siguiente etapa implicaría un mapeo organizacional, un mapeo tecnológico y el establecimiento de un modelo de negocio que influencie en la demanda agrícola y en el abastecimiento en calidad y cantidad de *Ullucus tuberosus* con la visión de estandarizar la industrialización de los procesos productivos con innovación tecnológica⁸⁸ en el marco del Biocomercio. Respecto al **Principio 5** “Cumplimiento de la legislación nacional e internacional”, se identificó cumplimiento alto, basado en la iniciativa de Registro de Conocimientos Colectivos de Pueblos Indígenas ante Indecopi. Al

presentar la solicitud se pretendía registrar el conocimiento del uso tradicional que le daban los pobladores a los tallos de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “Ullukullutu”; de este modo, se buscó el reconocimiento de los derechos de los actores poseedores de dicho conocimiento incluyendo sus derechos al consentimiento informado previo. Si bien esta solicitud siguió su proceso de evaluación, no se obtuvo un documento que respaldara el registro del conocimiento debido a la falta de pruebas de que el Centro Poblado de Huamantanga fuera considerado una comunidad indígena y como el registro se encuentra amparado bajo la Ley 27811⁵, cuyo ámbito de protección son los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas⁵, esta normativa nacional no pudo ser aplicada para la obtención del registro **Anexo 4, 11 y 12**. Asimismo, se atribuye a la iniciativa de obtención de autorización con fines de investigación científica sin fines comerciales en INIA, la obtención de autorización con fines científicos en SERFOR y la revisión de la normativa internacional Decisión 391⁸⁴, como parte del cumplimiento del principio en cuestión. Con relación al **Principio 6** “Respeto de los derechos de los actores involucrados en el Biocomercio”, se observó cumplimiento muy alto, manifestado en la información brindada tanto al alcalde representante del Centro Poblado Huamantanga (consentimiento informado previo **Anexo 5**) como a los propietarios de los predios mediante la solicitud de autorización para colecta **Anexo 6, 7 y 8** y la iniciativa de Registro de Conocimientos Colectivos que se detalla en el párrafo anterior **Anexo 4,11 y 12**. Del **Principio 7** “Claridad sobre la tenencia de la tierra, el uso y acceso a los recursos naturales y a los conocimientos”, se indujo cumplimiento alto basado en que se presentó la ya mencionada Autorización para colecta antes de proceder con la recolección previo consentimiento informado aprobado por el alcalde; además de los trámites gestionados con los organismos competentes encargados de velar por la protección de la biodiversidad peruana silvestre y doméstica (SERFOR-INIA) y de los conocimientos colectivos indígenas (Indecopi). Se rescata el buscar el reconocimiento de los derechos de los actores poseedores del conocimiento tanto en el trámite de registro ante Indecopi así como su mención en este trabajo de investigación. Es así como se valoró un *cumplimiento muy alto* del

Principio 2 y 6; cumplimiento alto del Principio 1, 5 y 7; cumplimiento medio del Principio 3 y cumplimiento bajo del Principio 4; que en conjunto corroboran la implementación del enfoque ecosistémico en este estudio, orientado al ámbito social y ecológico, el que a su vez puede alimentar a la cadena principal de *Ullucus tuberosus* y servir de base para posibles futuros proyectos con enfoques de cadena de valor y manejo adaptativo⁴².

Actualmente el Perú es reconocido a nivel regional como modelo en la aplicación de las iniciativas del Biocomercio por casos de empresas en Cusco (Kuski, Mara, Perú Inka y Miski), en Cajamarca (Villa Andina), en Áncash (Hapssa), en Junín (2A SRL) y en Puno (Cecovasa); sin embargo, aún continúan los múltiples esfuerzos comerciales, organizacionales, políticos, y gremiales, de los actores involucrados incluyendo a los estados y las universidades⁸⁹. Por tanto, se hace énfasis en la importancia del rol de las universidades como soporte en la aplicación de principios y criterios del Biocomercio en proyectos de investigación que posteriormente sean desarrollados y en un futuro puedan ser adoptados en el país, contribuyendo al desarrollo sostenible y logrando que cada vez más empresas elijan al Biocomercio como modelo de negocio.

Una de las tendencias del mercado cosmético a nivel mundial es la búsqueda de ingredientes verdes como las saponinas¹⁸, las cuales son capaces de degradarse con mayor facilidad que los de origen sintético tan empleados actualmente y de este modo reducir el nivel de contaminación. Como alternativa a esta necesidad, planteamos el uso de tallos de *Ullucus tuberosus* por su contenido de saponinas.

Se conoce que el Olluco es uno de los tubérculos andinos con mayor rendimiento después de la papa^{90, 91}, tolerante a condiciones adversas como heladas y plagas, por lo que no es necesario medidas especiales de control adicionales a las que manejan los agricultores⁹⁰; asimismo, los tubérculos de *Ullucus tuberosus* tienen gran trascendencia como alimento^{39, 91} en la dieta del poblador andino y representa una fuente de ingresos para miles de familias campesinas. Su consumo es alto por su contenido de nutrientes, pero su uso no solo está limitado al campo alimentario sino que se está evaluando utilizar sus pigmentos naturales en la industria⁹¹. Entre

otras propiedades de esta especie recientemente estudiadas destacan su capacidad antioxidante^{64, 65} y su actividad cicatrizante⁶²; por tanto este trabajo de investigación se suma a los nuevos aportes atribuidos a *Ullucus tuberosus*, al brindar un soporte científico calificándola como potencial fuente de saponinas mediante el aprovechamiento sostenible de sus tallos.

Una de las fuentes de saponinas reconocida mundialmente es la corteza de *Quillaja saponaria* pero entra en controversia el hecho de que su obtención depende de la deforestación de campos. Bajo este panorama, el Programa Eco Trade realizó el trabajo “Identificación de atributos de la saponina de la quinua para el mercado europeo de ingredientes naturales”, con el fin de reconocer los nichos de mercado y el potencial uso que se le puede dar a la cascarilla de la quinua, para ello se analizó la tendencia mundial de búsqueda de ingredientes naturales en el mercado cosmético y se identificó que en laboratorios de Europa ya hacen uso de fuentes naturales de saponinas de quinua. Brasil y Bolivia ya han iniciado con la extracción de saponinas de quinua con fines cosméticos, por lo que se incentiva al Perú en la participación del aprovechamiento sostenible de los residuos de la quinua y en un futuro no muy lejano ser considerado como un modelo de refinería de saponinas realizando estudios en coordinación con el Centro Europeo de Innovación de Saponinas (SICE)¹⁸. Esta perspectiva de ventaja competitiva de uso de residuos vegetales como fuente de ingredientes naturales, se ve fortalecida con el potencial uso de los tallos de *Ullucus tuberosus*, considerándose una oportunidad para el Perú como exportador de ingredientes verdes en cosmética a favor de la conservación del ambiente y aprovechamiento sostenible de la biodiversidad.

VI. CONCLUSIONES

- Se elaboró extractos hidroalcohólicos de los tallos de las subespecies silvestre y cultivada de *Ullucus tuberosus* recolectados de Huari-Áncash valorando un *cumplimiento muy alto* del **Principio 2 y 6**; *cumplimiento alto* del **Principio 1, 5 y 7**; *cumplimiento medio* del **Principio 3** y *cumplimiento bajo* del **Principio 4** del Biocomercio, bajo el enfoque ecosistémico.
- Se evaluaron las características fisicoquímicas de los extractos hidroalcohólicos, tales como pH, densidad y se realizó el tamizaje fitoquímico en el que se identificó mayor contenido de antocianinas, lactonas y cardenólidos en Ullukullutu en comparación con el Olluco, en el cual predominan alcaloides, aminoácidos y saponinas; asimismo, se determinó la presencia de esteroides, triterpenos, taninos y fenoles en ambas subespecies.
- Se comparó el efecto tensioactivo de los extractos hidroalcohólicos mediante la cuantificación de saponinas por el método modificado de ácido sulfúrico – vainillina resultando mayor contenido en los tallos de Olluco (64,4 %) que en Ullukullutu (17,9%) respecto a 100g de polvo seco.

VII. RECOMENDACIONES

- Optimizar el método de extracción de saponinas a partir de los tallos de *Ullucus tuberosus*, mediante la evaluación de los parámetros tales como solventes, proporción de solventes, tamaño de partícula del polvo, temperatura, entre otros.
- Investigar y estandarizar métodos para una alta purificación y obtención de saponinas crudas a partir de los tallos de *Ullucus tuberosus*, y complementar la identificación de estas mediante el uso de técnicas analíticas tales como HPLC, Espectrometría de masas y RMN.
- Evaluar mejoras en el método de cuantificación de saponinas ácido sulfúrico - vainillina modificado y/o plantear alternativas a esta que garanticen mayor seguridad al analista.
- Realizar la prueba de habilidad detergente para conocer la capacidad de remoción de grasa de las saponinas contenidas en los tallos de *Ullucus tuberosus* **Anexo 28**.
- Comparar el daño capilar generado por las saponinas de los tallos de *Ullucus tuberosus* con el producido por los tensioactivos comerciales **Anexo 29 y 30**.
- Llevar a cabo estudios de toxicidad del extracto/saponinas de tallos de *Ullucus tuberosus* sobre *Artemia salina*, la prueba de HET-CAM⁹²; además de evaluar la sensibilización alérgica mediante el método de la OECD 406^{93,94} con el fin de que puedan ser utilizados a nivel industrial.
- Orientar los estudios de investigación hacia la aplicación de los principios del Biocomercio que promuevan el uso sostenible de los recursos, así como publicar dichos trabajos en revistas científicas y fomentar la comercialización de los productos innovadores a favor del desarrollo del país alineados a lo propuesto por el Grupo de Investigación e Innovación en Biocomercio⁸⁸.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ferreira A, Vecino X, Ferreira D, Cruz JM, Moldes AB, Rodrigues LR. Novel cosmetic formulations containing a biosurfactant from *Lactobacillus paracasei*. Colloids Surfaces B Biointerfaces. 2017; 155:522-9.
2. Espíndola Müller L, Schiedeck G. Physical properties of botanical surfactants. Sci Total Environ. 2018;610-611:1133-7.
3. Saraji M, Shirvani N. Determination of residual 1,4-dioxane in surfactants and cleaning agents using headspace single-drop microextraction followed by gas chromatography–flame ionization detection. Int J Cosmet Sci. 2016;39(1):36-41.
4. Pires-Oliveira R, Joekes I. UV-vis spectra as an alternative to the Lowry method for quantify hair damage induced by surfactants. Colloids Surfaces B Biointerfaces. 2014;1-5.
5. Comisión Permanente del Congreso de la República. Ley No 27811. Ley que establece el régimen de protección de los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas vinculados a los recursos biológicos. Perú; 2002 p. 13.
6. Ríos F. Comportamiento ambiental de tensioactivos comerciales: Biodegradabilidad, Toxicidad y Ozonización. Universidad de Granada; 2014.
7. Jiménez Islas D, Medina Moreno SA, Gracida Rodriäquez JN. Propiedades, aplicaciones y produccion de biotensioactivos. Rev Int Contam Ambient. 2010;26(1):65-84.
8. Swapnadarshi S, Ranjani IS, Khwairakpam S. State-of-the-Art Review on the Characteristics of Surfactants and Foam from Foam Concrete Perspective. J Inst Eng Ser A. 2018;99(2):391-405.
9. Wisetkomolmat J, Suppakittpaisarn P, Sommano SR. Detergent plants of Northern Thailand: Potential sources of natural saponins. Resources. 2019;8(1):1-14.
10. Tmáková L, Sekretár S, Schmidt Š. Plant-derived surfactants as an alternative to synthetic surfactants: Surface and antioxidant activities. Chem Pap. 2015;70(2):188-96.
11. Oleszek W, Hamed A. Saponin-Based Surfactants. En: Kjellin M, editor. Surfactants from Renewable Resources. 1.a ed. 2010. p. 239-51.

12. Ahumada A, Ortega A, Chito D, Benítez R. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéuticas. 2016;45(3):438-69.
13. Sarker S, Nahar L. Extraction and Isolation of Saponins. En: Natural Products Isolation, Methods in Molecular Biology. 3.a ed. 2012. p. 415-26.
14. Aghel N, Moghimipour E, Raies A. Formulation of a Herbal Shampoo using Total Saponins of *Acanthophyllum squarrosum*. Iran J Pharm Res. 2007;6(3):167-72.
15. Najjar R. Saponin-Based, Biological-Active Surfactants from Plants. En: Reza N, editor. Application and Characterization of Surfactants. 1.a ed. 2017. p. 183-205.
16. Barve K, Dighe A. Hair Oils. En: Barve K, editor. The Chemistry and Applications of Sustainable Natural Hair Products, SpringerBriefs in Green Chemistry for Sustainability. 1.a ed. 2016. p. 5-24.
17. Roy D, Kommalapati RR, Mandava SS, Valsaraj KT, Constant WD. Sail washing potential of a natural surfactant. Environ Sci Technol. 1997;31(3):670-5.
18. Pajuelo R. Posibilidades de la Saponina de quinua en la industria cosmética [Internet]. 2016. Disponible en: <http://www.euroecotrader.pe/galeria/57bbdb99e24e2.pdf>
19. Cheok CY, Salman HAK, Sulaiman R. Extraction and quantification of saponins: A review. Food Res Int. 2014; 59:16-40.
20. Miyase T, Shiokawa K, Zhanc D, Ueno A. Araliasaponins i-xi, triterpene saponins. Phytochemistry. 1996;41(5):1411-8.
21. Qi X, Ignatova S, Luo G, Liang Q, Jun FW, Wang Y, et al. Preparative isolation and purification of ginsenosides Rf, Re, Rd and Rb1 from the roots of *Panax ginseng* with a salt/containing solvent system and flow step-gradient by high performance counter-current chromatography coupled with an evaporative light sca. J Chromatogr A. 2010;1217(13):1995-2001.

22. Flores T, Huamán J, Tomás G. Estudio Comparativo de tres metodologías de extracción de saponinas de la *Melisa officinalis* «Toronjil». *Rev Per Quím Ing Quím.* 2013;16(2):47-51.
23. Nguyen V, Vuong Q, Bowyer M, Van Altena I, Scarlett C. Microwave-Assisted Extraction for Saponins and Antioxidant Capacity from Xao Tam Phan (*Paramignya trimera*) Root. *J Food Process Preserv.* 2016;41(2):1-11.
24. Hamdan Abd Khalek N. A study on Ultrasonic Assisted Extraction and Formulate Natural Hair Shampoo from *Sapindus Emarginatus*. Universiti Malaysia Pahang; 2012.
25. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales. 3.a ed. PUCP; 2016. 243-253 p.
26. Dobjanschi L, Zdrinca M, Muresan M, Vicas S, Antonescu A. The thin layer chromatography analysis of saponins belonging to *Solidago* species. *Analele Univ din Oradea, Fasc Protecția Mediu.* 2013; 21:56-60.
27. Ncube B, Ngunge VNP, Finnie JF, Van Staden J. A comparative study of the antimicrobial and phytochemical properties between outdoor grown and micropropagated *Tulbaghia violacea* Harv. plants. *J Ethnopharmacol.* 2011; 134:775-80.
28. Instituto Ecuatoriano de Normalización . NTE INEN 0831 (1982) (Spanish): Agentes tensoactivos. Determinación del nivel de espuma. Vol. 0831. 1982.
29. Thompson D, Lemaster C, Allen R, Whittam J. Evaluation of relative shampoo detergency. *J Soc Cosmet Chem.* 1985;36(4):271-86.
30. Chen Y, Yang C, Chang M, Ciou Y, Huang Y. Foam properties and detergent abilities of the saponins from *Camellia oleifera*. *Int J Mol Sci.* 2010;11(11):4417-25.
31. Mainkar AR, Jolly CI. Evaluation of commercial herbal shampoos. *Int J Cosmet Sci.* 2000;22(5):385-91.
32. Mac Donald D, Foy Valencia E, Cuyos M, Dueñas R. Extracción, identificación y evaluación de saponinas en *Agaricus bisporus*. *Biotempo.* 2005; 5:32-7.
33. Le A, E. Parks S, H. Nguyen M, D. Roach P. Improving the Vanillin-Sulphuric Acid Method for Quantifying Total Saponins. *Technologies.* 2018;6(84):1-12.

34. Ortega Rodriguez M. Comportamiento Reológico de Disoluciones Acuosas de Surfactantes Comerciales no iónicos. Universidad de Granada; 2009.
35. Robbins CR. Chemical and Physical Behavior of Human Hair. 5.a ed. Springer Heidelberg Dordrecht London; 2012. 746 p.
36. Borges C, Roberts J, Wilkins D, Rollins D. Relationship of melanin degradation products to actual melanin content: Application to human hair. Anal Biochem. 2001;290(1):116-25.
37. López G, Hermann M. El cultivo del ulluco en la sierra central del Perú. 3.a ed. Lima: Centro Internacional de la Papa, Universidad Nacional del Centro, Instituto Vida en los Andes, Universidad Nacional Agraria La Molina, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación; 2004. 5-13 p.
38. Mostacero J, Mejía F, Gamarra O. Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Trujillo: Editora Normas Legales; 2002. 144-145 p.
39. Moreira A, Muñoz M. Nueva familia de angiospermas para el registro de la flora nativa de Chile: la familia Basellaceae. Gayana Botánica. 2018;75(2):639-42.
40. Lim T. Edible Medicinal and Non Medicinal Plants Volume 9, Modified Stems, Roots, Bulbs. Springer Heidelberg Dordrecht London; 2015. 741-744 p.
41. Espada A, Jiménez C, Dopeso J, Riguera R. Tuberosides A, B, and C, Novel Triterpenoid Saponins from the Hypoglucaemic Fraction of *Ullucus tuberosus*. Liebig's Ann. 1996;781-4.
42. Naciones Unidas. UNCTAD Iniciativa Bio Trade. Principios y Criterios de Biocomercio. Nueva York y Ginebra; 2007.
43. Ministerio del Ambiente. Manual del Curso Biocomercio. Lima; 2013.
44. PROMPERÚ. Biocomercio: modelo de negocios sostenible. PromPerú. Lima; 2014.
45. Matas A. Diseño del formato de escalas tipo Likert: Un estado de la cuestión. Rev Electron Investig Educ. 2018;20(1):38-47.
46. Ma L, Gu Y, Luo J, Wang J, Huang X, Kong L. Triterpenoid saponins from *Dianthus versicolor*. J Nat Prod. 2009;72(4):640-4.

47. Rojas A, Tapia W. Cuantificación por espectrofotometría uv/vis de las saponinas contenidas en el episperma de la especie *Chenopodium quinoa* Willd “quinua” procedente de la provincia de Santiago de Chuco - La Libertad. Universidad Nacional de Trujillo; 2011.
48. He Y, Lu K, Yuan D, Zhang C. Studies on preparative technology and quantitative determination for extracts of total saponin in root of *Panax japonicus*. Zhongguo Zhongyao Zazhi. 2008;33(22):2607-11.
49. Rakesh M, Ashok K, Kumar S, Amitabh T. Formulation of herbal shampoos from *Asparagus racemosus*, *Acacia concin*, *Sapindus mukorossi*. Int J Pharm Sci Rev Res. 2010;4(1):39-44.
50. Machaca M, Ayala L. Estudio farmacognóstico y determinación de la actividad antituberculosa DE *Spergularia media* (L.) Griseb. Choquetacarpo. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
51. Saldarriaga G, Zambrano E. Dosificación óptima de hidróxido de sodio como reactante de la alcalinidad del jabón en barra a base de piñón (*Jatropha curcas* L.). Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López; 2014.
52. Lunkenheimer K, Malysa K. Simple and generally applicable method of determination and evaluation of foam properties. J Surfactants Deterg. 2003;6(1):69-74.
53. Francis G, Kerem Z, Makkar H, Becker K. The biological action of saponins in animal systems: a review. Br J Nutr. 2002;88(6):587-605.
54. Ferraro G, Martino S. V, Bandoni A, Nadinic J. Fitocosmética: fitoingredientes y Otros Productos Naturales. 1 ed. Eudeba, editor. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Editorial Universitaria de Buenos Aires; 2015. 274 p.
55. Barve K, Laddha K, Jayakumar B. Extraction of saponins from safed musli. Pharmacogn J. 2010;2(13):561-4.
56. Lozano M, Ticona E, Carrasco C, Flores Y, Almanza G. Cuantificación De Saponinas En Residuos De Quinoa Real *Chenopodium quinoa* Willd. Rev Boliv Química. 2012;29(2):131-8.

57. Guzmán B, Cruz D, Alvarado J, Mollinedo P. Cuantificación de Saponinas en muestras de Cañihua *Chenopodium pallidicaule* Aellen. Rev Boliv Química. 2013;30(2):131-6.
58. Santizo D. Aislamiento y Cuantificación gravimétrica de Saponinas esteroideas contenida en *Yucca elephantipes* (izote). Universidad de San Carlos de Guatemala; 2013.
59. Usiña K. Análisis de las propiedades surfactantes de saponinas obtenidas de los frutos de *Sapindus saponaria* L. Universidad Central del Ecuador; 2017.
60. Méndez J. Obtención de saponinas de los frutos de la *Solanum marginatum* y Análisis de sus propiedades como surfactante. Universidad Central del Ecuador; 2016.
61. Tomás G, Huamán J, Aguirre R, Barrera M. Extracción y clasificación de la saponina del *Sapindus saponaria* L., «Boliche». Rev Peru Química e Ing Química. 2010;13(2):36-9.
62. Quispe N, Blacido Z. Actividad cicatrizante y toxicidad dérmica del extracto etanólico de los tubérculos de *Ullucus tuberosus* Caldas “OLLUCO” en animales de experimentación. Universidad Norbert Wiener; 2018.
63. Salluca T, Peñarrieta M, Alvarado J, Bergenstahl B. Determination of Total Phenolic Compounds Content and the Antioxidant Capacity of Andean Tubers and Roots (Isaño, Oca, Ulluco and Arracacha). Rev Boliv Química. 2008;25(1):58-61.
64. Zavaleta J, Muñoz A, Blanco T, Alvarado C, Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Horiz méd. 2005;2(1):1-5.
65. Mejía F, Salcedo J, Vargas S, Serna J, Torres L. Capacidad antioxidante y antimicrobiana de tubérculos andinos (*Tropaeolum tuberosum* y *Ullucus tuberosus*). Rev UDCA Actual Divulg Científica. 2018;21(2):449-56.
66. Campos D, Noratto G, Chirinos R, Arbizu C, Roca W, Cisneros-Zevallos L. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz &

- Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). J Sci Food Agric. 2006; 86:1481-8.
67. Chirinos R, Campos D, Warnier M, Pedreschi R, Rees J, Larondelle Y. Antioxidant properties of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. Food Chem. 2008;111(1):98-105.
 68. Mena L, Tamargo B, Salas E, Plaza L, Blanco , Otero A, et al. Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). Rev Cuba Plantas Med. 2015;20(1):106-16.
 69. Siller D. Extracción y purificación de saponinas del residuo del tallado del *Agave lechuguilla* (guishe) y su aplicación potencial. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2012.
 70. Hiai S, Oura H, Nakajima T. Color Reaction of Some Sapogenins. Planta Med. 1976; 29:116-22.
 71. Hernández R, Lugo E, Villanueva S, Díaz L. Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla*. e-Gnosis. 2005;3(3):1-9.
 72. Moses T, Papadopoulou K, Osbourn A. Metabolic and functional diversity of saponins, biosynthetic intermediates and semi-synthetic derivatives. Crit Rev Biochem Mol Biol. 2014;49(6):439-62.
 73. Espada A, Rodríguez J, Villaverde M, Riguera R. Hypoglycaemic triterpenoid saponins from *Boussingaultia baselloides*. Can J Chem. 1990;68(11):2039-44.
 74. Espada A, Rodríguez J, Villaverde M, Riguera R. Boussingoside D1, a new triterpenoid saponin from *Boussingaultia baselloides*. Liebigs Ann der Chemie. 1991; 68:291-3.
 75. Espada A, Riguera R, Jiménez C. Boussingoside E, a new triterpenoid saponin from the tubers of *Boussingaultia baselloides*. J Nat Prod. 1997;60(1):17-9.
 76. Teng H, Fang M, Cai X, Hu Z. Localization and Dynamic Change of Saponin in Vegetative Organs of *Polygala tenuifolia*. J Integr Plant Biol. 2009;51(6):529-36.
 77. Mangas A. Producción de saponinas triterpénicas en cultivos in vitro de *Centella asiatica*. 2019.

78. Domon B, Hostettmann K. Saponins with Molluscicidal Properties from *Lonicera nigra* L. Helv Chim Acta. 1983;66(2):422-8.
79. Tenon M, Feuillère N, Roller M, Birtić S. Rapid, cost-effective and accurate quantification of *Yucca schidigera* Roezl. steroidal saponins using HPLC-ELSD method. Food Chem. 2017; 221:1245-52.
80. Grandón S, Espinosa B, Ríos L, Sánchez O, Sáez C, Hernández S, et al. Variation of Saponin Contents and Physiological Status in *Quillaja saponaria* Under Different Environmental Conditions. Nat Prod Commun. 2013;8(12):1697-700.
81. Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1672: 2013 Primera revisión QUINUA. Determinación del Contenido de Saponinas por medio del Método Espumoso (Método de rutina). Quito, Ecuador; 2013.
82. Maldonado J. Reformulación de detergentes líquidos que sean biodegradables. Universidad Mayor de San Andres; 2015.
83. MINAM. Decreto Supremo No 003-2009-MINAM — Eleva al rango de Decreto Supremo la Resolución No 087-2008-MINAM y ratifica la aprobación del Reglamento de acceso a recursos genéticos, efectuada por dicha Resolución. El Peruano Perú; 2009.
84. La Comisión del Acuerdo de Cartagena. Decisión 391. Régimen Común sobre Acceso a los Recursos Genéticos. Países Miembros; 1996 p. 18.
85. Congreso de la República. Ley N°29763. Ley Forestal y de Fauna Silvestre. Perú; 2011.
86. SERFOR. La ruta para investigar la Biodiversidad de Flora y Fauna Silvestre fuera de Áreas Naturales protegidas. Guía Práctica. Lima; 2016.
87. MINAM. Impacto de la Promoción del Biocomercio en el Perú-Retos y Oportunidades. Lima; 2015.
88. Instituciones impulsoras del Grupo de Investigación e Innovación en Biocomercio. Agenda de Investigación e Innovación para el Biocomercio 2012-2021. Lima; 2012.

89. Ortega E, Cachicatari F. Diseño de un esquema de desarrollo de nuevos productos en el sector de productos naturales, bajo los principios y criterios del Biocomercio y desde un enfoque farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2012.
90. Zambrano E. Estudio de la variabilidad del Melloco (*Trapaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) en finca de agricultores Colta-Chimborazo. Universidad Central del Ecuador; 2004.
91. Manrique I, Arbizu C, Vivanco F, Gonzales R, Ramírez C, Chávez O, et al. *Ullucus tuberosus* Caldas. Colección de germoplasma de ulluco conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP). Lima, Perú: Centro Internacional de la Papa (CIP); 2017. 445 p.
92. Taype Espinoza ER. Estandarización y validación del método HET CAM para medir la irritabilidad ocular in vitro de los extractos de cinco frutos nativos del Perú utilizados en la industria cosmética. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
93. The Organisation for Economic Co-operation and Development. OECD [Internet]. [citado 2 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.oecd.org/about/>
94. Murillo G, Pérez Marqués U, Tur E, Vinardell MP, García Simón G, Pascual JR. Estudio comparativo de tres variantes del ensayo de la membrana corioalantoidea del huevo de la gallina para la evaluación de la irritación ocular. Rev Toxicol. 2003;20(3):187-92.
95. Indecopi. Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual-Indecopi [Internet]. [citado 12 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://www.indecopi.gob.pe/indecopi>
96. SERFOR. Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR [Internet]. [citado 12 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://www.gob.pe/serfor>
97. INIA. Instituto Nacional de Innovación Agraria-INIA [Internet]. [citado 12 de diciembre de 2018]. Disponible en: <https://www.inia.gob.pe/>

IX. ANEXOS

Anexo 1

Agentes tensioactivos y fuentes de obtención

Table 2 An overview of potential foaming agents for use in foam concrete production				
Foaming agent	Classification of foaming agent	Properties studied		Major findings
		Foam	Foam concrete	
Sodium lauryl sulphate (SLS)	Anionic surfactant	i–v, vii	viii–xii, xiv–xviii, xx	Addition of sodium admixtures namely NaCl, Na ₂ CO ₃ and NaOH is reported to improve the foam properties such as initial foam density and stability and subsequently enhanced the performance in cement based mixes [24] Use of fly ash as cement replacement material improves the microstructure and the mechanical properties of foamed concrete and hence can be extended for use in structural applications [65]
Sodium lauryl ether sulphate (SLES)	Anionic surfactant	i–v	viii–xii, xiv–xviii	Requirements of ASTM C 869 for foamed cement paste are fulfilled when the optimum foam production parameters are adopted [63] Studies on durability related properties proved that the cell like structure of foam concrete do not necessarily make foam concrete less resistant to penetration of aggressive ions [126]
Alcohol ethoxy sulphate (AES)	Anionic surfactant	i, iv, vi, vii	viii–x, xii, xiii, xv	Thermal conductivity of foamed concrete with AES is reported to range from 0.12 to 0.421 W/mK for dry density of concrete ranging from 440 to 1500 kg/m ³ [44]
Alpha olefin Sulfonate (AOS)	Anionic surfactant	i, iv, vi, vii	viii–x, xii, xiii, xv	Concrete mixes produced with AOS Foaming agent has higher workability which can be attributed to the lower surface tension of foaming agent solution [44]. Also it is recommended for use in partial load bearing insulation elements because of its higher compressive strength
Sodium oleate	Anionic surfactant	ii	viii, xiv	Sodium oleate when used in cement based mixes tends to show slightly low initial foam volume because of inhibiting effect of calcium ions released by cement but however the stability of foam remains unaffected [62]
Sulphanol	Anionic surfactant	i–v	viii–xi, xiii, xiv	Corr (2002) observed that the foaming ability of sulphanol is relatively less affected by the calcium ions in cement paste [62]
Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB)	Cationic surfactant	vi	viii–xi, xiii, xiv	The morphology of pore structure changed from monodispersed to highly connected structure when the density of foam concrete was varied from 551 to 254 kg/m ³ [55]
Cetrimide	Cationic surfactant	vi	viii–xi, xiii, xiv	Suitable for mix-foaming method, as a significant reduction of 50% in density of concrete was realized with small increase of 0.2% dosage of Cetrimide [55]
Neopor	Aqueous protein hydrolysate	vi	viii–xi, xiii, xiv	Samson observed from his comparative study that a decrease in dry density of concrete by 100 kg/m ³ resulted in reduction in thermal conductivity of 0.033 W/mK and hence foamed concrete made with Neopor surfactant is found to have relatively low thermal conductivity [55]
Microair	PEG fatty acid	vi	viii–xi, xiii, xiv	The surface tension of foaming agent solution prepared with Microair is reported to as low as 25 mN/m and hence it is expected to result in more stable foam leading to improved mechanical performance of foamed concrete [55]
Cocodiethanolamide (CDA)	Non-ionic surfactant	i–v	viii–xi	In a comparative study of CDA with ionic surfactants, though the foam produced with CDA had good stability, but the output rate was low due to its high viscous nature [63]
Vegetable soap	Natural surfactant	i, iv, vi, vii	viii–x, xii, xiii, xv	The quantity of vegetable oil needed for foam production is less as its foam density is as low as 33 kg/m ³ [44]
Fe-protein	Natural surfactant	i, iv, vi, vii	viii–x, xii, xiii, xv	In a comparative study with synthetic surfactants, the compressive and flexural strength of foamed concrete produced with Fe-protein is reported to be relatively higher and this can be attributed to the stable nature of foam produced with thick lamellae and high density [44]
Soapnut (SN)	Plant based	i, ii, v	viii–x, xiv, xv, xx	Surfactant solution prepared by water soaking of SN pericarp and then further heating to 80 °C resulted in relatively better foam density when compared to simple method of just water soaking of SN pericarp without heating. Also the foam produced with SN when used in foamed cement paste is reported to result in considerable delay in the setting time [29]
Animal hoof and horn	Animal protein based	ii, iv	viii, x, xiii	Foamed concrete prepared with animal hoof and horn protein surfactant is reported to possess well pouring stability [32]
Baijiu vinnase	Plant protein based	ii, iv	–	The properties of foam such as foamability and foam stability as determined by Ross-Miles meter is found to be satisfactory proving the huge potential for application of Baijiu vinnase as surfactant [35]

Surfactant and foam related properties—(i) foam density, (ii) foam stability, (iii) foam output rate, (iv) foam capacity, (v) foam texture, (vi) surface tension of surfactant solution, (vii) viscosity of surfactant
Foam concrete properties—(viii) fresh density, (ix) dry density, (x) compressive strength, (xi) water absorption, (xii) flexural strength, (xiii) thermal conductivity, (xiv) microstructure, (xv) workability, (xvi) sorptivity, (xvii) shrinkage, (xviii) sulphate resistance, (xix) chloride resistance, (xx) setting behaviour

Figura 1. Lista de agentes tensioactivos y sus fuentes de obtención. **Fuente:** Swapnadarshi

S., 2018

Anexo 2

Fuentes de saponinas

Tabla 1. Principales plantas fuentes de saponinas y usos

	Planta	Saponina	Propiedades debidas a las saponinas	Utilizaciones	Competidor químico
Plantas con saponosidas principalmente anti-inflamatorias	Regaliz (régliste), <i>Glycyrrhiza glabra</i> , raíz	Acido glycyrrhizico = glycyrrhizine (monodesmoside de ácido glycyrrhético)	Anti-inflamatorio (potencializa el efecto de los corticoides)	Problemas digestivos (hinchazón) epigástrico, lentitud en la digestión, flatulencia). Tos. Uso local : analgésico en las afecciones de la cavidad bucal, de la faringe. Inflamación de las vías respiratorias superiores. Úlcera gastroduodenal.	Sustancia hémisintética : carbenoxolone (hémissuccinate del ácido glycyrrhético)
	Castaña de las Indias, <i>Aesculus hippocastanum</i> , grano	Escine	Anti-inflamatorio, anti-oedémateux (tonificante vascular)	Problemas funcionales de la fragilidad capilar cutánea (écchymoses). Síntomas de insuficiencia venosa crónica (piernas pesadas). Sintomatología hemorroidal.	
Plantas con saponosidas utilizables en flebotomía y proctología	Fragon (petit houx), <i>Ruscus aculeatus</i> , rhizome, racines	Hétérosides de la ruscogénine et de la néoruscogénine	Vasculoprotecteur	Manifestación subjetiva de insuficiencia venosa (piernas pesadas). Symptomatología hémorroïdal.	
	Ficaire, <i>Ranunculus ficaria</i> = <i>Ficaria ranunculoides</i> , raíz	Hétérosides de l'hédéragénine et de l'acide oléanolique	Vasculoprotector	Manifestación subjetiva de la insuficiencia venosa (piernas pesadas). Symptomatología hémorroïdal.	
Plantas con saponosidas utilizables en el tratamiento de la tos	Polygala de Virginie, <i>Polygala senega</i> , racine	Sénégines II, III et IV (hétérosides de la présénégine)	Anti-tussif	Tos (sirop). Inflamación de las vías respiratorias	
	Lierre, <i>Hedera helix</i> , hoja.	Hédérasaponines B à I (hétérosides de l'acide oléanolique, de l'hédéragénine ou de la bayogénine). Hédéracoside C majoritaire. Alpha-hédérine	Suavizante, anti-prurigineux	Ayuda a los regímenes de adelgazamiento . Afecciones dermatológicas (grietas, raspaduras, picaduras de insectos). Inflamación de vías respiratorias (bronquitis crónicas)	

Fuente: Pajuelo R;2016.

Tabla 1. Principales plantas fuentes de saponinas y usos (*Continuación*)

	Planta	Saponina	Propiedades debidas a las saponinas	Utilizaciones	Competidor químico
Plantas con saponosidas utilizables en dermatología	Hydrocotyle, <i>Centella asiática</i> , parte aérea	Asiaticoside y madécassoside	Cicatrizante, suavizante, anti-pruriginoso	Problemas funcionales de la fragilidad capilar cutáneo (écchymoses). Manifestación subjetiva de insuficiencia venosa (piernas pesadas). Symptomatología hemorroidal. Afecciones dermatológicas (grietas, raspaduras, picaduras de insectos). Eritema solar (enrojecimiento de la piel), quemaduras superficiales, eritema enrojecimiento de nalgas	
	Souci des jardins, <i>Calendula officinalis</i> , flor	Calendulaglycocosides, calendulosides (derivados del ácido oléanólico)	Suavizante, anti-pruriginoso		
Plantas con saponosidas "adaptogeneas"	Ginseng, <i>Panax ginseng</i> , raíz	Ginsénosides (hétérosides del protopanaxadiol y del protopanaxatriol)	Adaptogenico. Tonificante, fortificante	Asthénie funcional, baja de la capacidad de concentración y de actividad, y en periodo de convalecencia.	
	Eleuthérocoque, <i>Eleutherococcus senticosus</i> , raíz	Eleuthérosides	Adaptogenico. Tonificante, fortificante	Asthénie funcional, baja de capacidad de concentración y de actividad, y en periodo de convalecencia	
Plantas con saponosides detergentes	Madera de Panama, <i>Quillaja saponaria</i> , corteza (Madera o Arbol s de Panama)	Quillayasaponines (derivados del ácido quillaico)	Suavizante, anti-pruriginoso. Espumoso, detergente, emulsificante	Afecciones dermatológicas (grietas, , picaduras de insectos). Higiene y cosmético (champú y producto para el tratamiento de los cabellos, productos para baño y ducha, desmaquillante, máscaras...)	SLS (Sodium Lauryl Sulfate) o SDS (dodécylsulfate de sodium : detergente y tensioactivo iónico fuerte. Tween 80 : detergente no iónico.
	Saponaire, <i>Saponaria officinalis</i> , parte aérea y rizoma, raíces	Saponariosides A-B (derivadas del ácido quilaico), saponariosidas C-I, L-M (derivadas de los ácidos gypsogénicos o 16alpha-hydroxygypsogénico), saponariosidas J-K	Diurético, depurativo	Inflamación de las vías respiratorias superiores	

Fuente: Pajuelo R;2016.

Tabla 1. Principales plantas fuentes de saponinas y usos (*Continuación*)

	Planta	Saponina	Propiedades debidas a las saponinas	Utilizaciones	Competidor químico
	Gypsophiles, <i>Gypsophila</i> spp., parte subterránea	Gypsoside A, saponaside D (dérivés de gypsogénine) et autres dérivés d'acide quillayique	Tensioactivo	Inflamación de las vías respiratorias superiores	
	<i>Sapindus mukurosis</i> , pericarpio de la fruta	Mukurozi saponine (ester saponine dérivé d'hédéragénine)	Antimicrobico, insecticida. Limpiador. Surfactante	Afecciones dermatológicas. Higiene y cosmética	
	<i>Camellia oleifera</i> (<i>Theaceae</i>), grano	Camellia saponine, theasaponine E1, E2, sasanquasaponine	Antibactérien. Stabilisant de mousse, émulsifiant	Higiene y cosmética	
Otras plantas con saponosidas	Chrysanthellum, <i>Chrysanthellum indicum</i> , planta entera	Chrysanthellines A et B (bidesmosides de l'acide échinocystique et caulophyllogénine)	Anti-oedémateuse	Insuficiencia de la secreción biliar, dysmétabolisme lipoprotéique. Insuficiencia venosa. Rosacée	
	Luzerne, <i>Medicago sativa</i> , planta entera	Glycosides de soyasapogénols, bidesmosides et tridesmosides d'oléanènes acides (acide médicagénique, 16alpha- hydroxymédicagénique, hédéragénine)	Planta fourrajera		
	Tepescohuite, <i>Mimosa tenuiflora</i> , écorce	Mimonosides A-C (bidesmosides del acido oléanoleico y del acido machérinique)	Analgésico. Favorece la regeneración del tejido	Afecciones dermatológicas. Quemaduras	
	Igname "yam", <i>Dioscorea villosa</i> , tuberculo	Derivados de la diosgénine		Hémisíntesis de los estéroïdes	
	<i>Polypodium glycyrrhiza</i> (<i>Polypodiaceae</i>), rhizome	Polypodoside A et C	Poder similar al azúcar (600 veces mayor que un solución de 6% de sucrosa)		

Fuente: Pajuelo R; 2016.

Anexo 3

Principios y Criterios del Biocomercio

Tabla 2. Principios y criterios del biocomercio

PRINCIPIOS		Criterios
Principio 1	Conservación de la biodiversidad La finalidad es que las organizaciones contribuyan en el mantenimiento de la biodiversidad en sus diferentes niveles como genes, especies y ecosistemas.	Criterio 1.1: Mantenimiento de las características de los ecosistemas y hábitats naturales de las especies aprovechadas Mantener y conservar las condiciones ecológicas de los ecosistemas donde se hallan estas especies aprovechadas y evitar que no se vean amenazadas.
		Criterio 1.2: Mantenimiento de variabilidad genética de flora, fauna y microorganismos (para uso y conservación) La variabilidad genética debe ser protegida o manejada evitando los riesgos de su pérdida.
		Criterio 1.3 Mantenimiento de los procesos ecológicos Mantener la calidad del aire, del agua y del suelo, las funciones ecosistémicas de los biomas, la regulación de flujos hídricos y los microclimas locales y las interacciones intra e interespecíficas que puedan afectar la productividad de las especies.
		Criterio 1.4 Las actividades deben enmarcarse en planes de manejo, sean en áreas protegidas o no, en coordinación con las autoridades competentes y actores involucrados Debe haber coherencia entre los planes de manejo y la conservación de las áreas donde se realizan actividades productivas, favoreciendo la implementación de los mismos por parte de las organizaciones.
Principio 2	Uso sostenible de la biodiversidad La obtención de los productos del biocomercio no debe superar la capacidad de regeneración y/o productividad del recurso o ecosistema involucrado. Las organizaciones deberían definir instrumentos para la aplicación de buenas prácticas de manejo y monitoreo para orientar, diseñar y mejorar los procesos productivos.	Criterio 2.1: La utilización de la biodiversidad debería basarse en un documento de gestión sostenible, que incluya elementos como una tasa de aprovechamiento menor a la tasa de regeneración, sistemas de monitoreo (estado poblacional) e índices de rendimiento Definir las actividades necesarias para asegurar el uso sostenible de los recursos biológicos, monitorizar las actividades implementadas y sus impactos.
		Criterio 2.2: El aprovechamiento de la agrobiodiversidad debería incluir prácticas agrícolas que contribuyan a la conservación de la biodiversidad Asegurar el mantenimiento de las condiciones básicas que apoye una producción agrícola a largo plazo sin amenazar la biodiversidad sino fomentando su recuperación.
		Criterio 2.3: Cumplimiento de estándares técnicos para el desarrollo de iniciativas de servicios ambientales La oferta de servicios ambientales como ecoturismo, regulación hídrica, mitigación del cambio climático, entre otros, debería realizarse de acuerdo a los estándares técnicos definidos en cada ámbito, de acuerdo con normas existentes en el ámbito nacional o internacional.
		Criterio 2.4: Generación de información y documentación de las experiencias de la organización como aporte al conocimiento sobre la biodiversidad Validar y difundir los conocimientos generados como experiencias de las organizaciones y proyectos en el manejo de la Biodiversidad.

Fuente: Naciones Unidas; 2007. *Elaboración propia.*

Tabla 2. Principios y criterios del biocomercio (Continuación)

PRINCIPIOS		Criterios
Principio 3	Distribución justa y equitativa de beneficios derivados del uso de la biodiversidad Aplicable en el marco de las actividades relacionadas a los recursos biológicos y genéticos (cubre la totalidad del comercio de los bienes y servicios de Biocomercio).	Criterio 3.1: Interacción e inclusión en el marco de las actividades de Biocomercio de la mayor cantidad posible de los actores de la cadena de valor La organización debe interactuar con los demás actores involucrados en la producción y comercialización facilitando la negociación e implementación de acuerdos comerciales que permita una distribución equitativa de beneficios, al informarles de las particularidades de estos procesos, en función a su aporte en la creación de valor.
		Criterio 3.2: La generación de valor debe tener lugar a lo largo de la cadena, bajo condiciones de transparencia, aportando así todos los actores al posicionamiento de productos de valor agregado en los mercados La precondition para la distribución equitativa de los beneficios es la generación de valor e ingresos, sin la cual los actores económicos de los bionegocios no cuentan con las bases materiales de los mismos beneficios.
		Criterio 3.3: Información y conocimiento de los mercados Las organizaciones de Biocomercio buscan promover una interacción mayor entre las comunidades locales y los demás actores económicos con los mercados y las oportunidades que estos ofrecen, apoyando el aprovechamiento máximo de las condiciones objetivas de acceso a dichos mercados.
Principio 4	Sostenibilidad socio-económica (de gestión, productiva, financiera y de mercado) El objetivo es que los productos manejados sosteniblemente se posicionen en los mercados específicos y mantenerse así hasta la obtención de los beneficios esperados.	Criterio 4.1: Existencia de potencial de mercados Deben existir mercados específicos destinados para los productos y servicios del Biocomercio, de ser necesario crearlos mediante el uso de herramientas de mercadeo, información, alianzas estratégicas y publicidad.
		Criterio 4.2: Rentabilidad financiera Una organización de Biocomercio debería tener un potencial de sostenibilidad financiera a largo plazo acorde con las actividades y características de la organización.
		Criterio 4.3: Generación de empleo y mejora de calidad de vida La generación de empleo y el mejoramiento de la calidad de vida de la comunidad proveedora de los recursos naturales permiten el desarrollo local siendo esto un valor agregado de gran importancia para la organización. Las formas de apoyar con el mejoramiento de dichas condiciones incluyen la utilización de herramientas que permitan a las comunidades aumentar su capacidad, mejorar sus prácticas comerciales y adicionar el mayor valor posible a la cadena de valor.
		Criterio 4.4: Prevención de eventuales impactos negativos sobre prácticas productivas y culturales locales que puedan, por ejemplo afectar la diversificación y la seguridad alimentaria Tener en cuenta que el desarrollo de actividades comerciales alrededor de recursos naturales puede cambiar las costumbres de los productores y las dinámicas del mercado local, afectando las prácticas productivas tradicionales y la disponibilidad y precios de los productos básicos para la seguridad alimentaria de las poblaciones locales. Las organizaciones deben reconocer los esfuerzos de la comunidad responsable o involucrada en la conservación y uso sostenible de los recursos que se están utilizando. Los beneficios derivados de las actividades de biocomercio deben por lo tanto ser compartidos de manera que compensen a la comunidad y contribuyan a la protección del recurso.
		Criterio 4.5: Capacidad organizativa y de gestión La organización debería tener una estructura organizativa que permita coordinar sus actividades, siempre acorde a sus características particulares, así como una estrategia que establezca y demuestre un alto potencial de sostenibilidad financiera a largo plazo.
Principio 5	Cumplimiento de la legislación nacional e internacional Importante para la legitimización de las organizaciones y el acceso de sus productos al mercado.	Criterio 5.1: Conocimiento y cumplimiento de la legislación nacional y local aplicable para el uso de la biodiversidad y el comercio de sus productos y servicios derivados (manejo de vida silvestre, legislación laboral, fitosanitaria, comercial, estudio de impacto ambiental, etc.). Toda normativa nacional que sea aplicable a los proyectos de Biocomercio debe ser seguida en la forma más estricta posible, incluyendo la legislación laboral.
		Criterio 5.2: Conocimiento y cumplimiento de legislación internacional aplicable para el uso de la biodiversidad y el comercio de sus productos y servicios derivados Dentro de ellas está la Convención sobre Diversidad Biológica, la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre, las convenciones de la Organización Internacional del Trabajo, y las reglas de la Organización Mundial del Comercio y de la Comunidad Andina, entre otras.

Fuente: Naciones Unidas; 2007. *Elaboración propia.*

Tabla 2. Principios y criterios del biocomercio (Continuación)

PRINCIPIOS	Criterios
<p>Principio 6</p> <p>Respeto de los derechos de los actores involucrados en el Biocomercio</p> <p>En la gestión de una organización de Biocomercio se debe incluir el respeto de los derechos de los actores que de alguna forma interactúan con la organización y la generación de desarrollo local.</p>	<p>Criterio 6.1: Respeto a los derechos humanos, generacionales y de género Los derechos de todos los involucrados en la comercialización sostenible deben ser debidamente reconocidos y respetados.</p> <p>Criterio 6.2: Respeto a los derechos de propiedad intelectual Tanto los derechos de propiedad intelectual como el aporte del conocimiento tradicional deberían ser reconocidos y respetados; si este último es relevante para la comercialización de los productos, esa contribución debería ser reconocida por las organizaciones a través de la propiedad conjunta de los derechos de la propiedad intelectual y/o la distribución de las regalías obtenidas; para ello es importante una coordinación y discusión de la política de la propiedad intelectual con los diferentes actores.</p> <p>Criterio 6.3: Respeto a los derechos de comunidades locales y pueblos indígenas (territorio, cultura, conocimiento, prácticas) Para asegurar el comercio sostenible, se deben respetar los derechos de estos grupos y considerar los impactos del sistema productivo sobre sus comunidades.</p> <p>Criterio 6.4: Mantenimiento y rescate de conocimientos y prácticas tradicionales El conocimiento tradicional relacionado a la conservación y el uso sostenible de los recursos biológicos es un componente importante de muchas actividades de Biocomercio; aún así no haya una contribución directa a la cadena de valor, la organización debe desarrollar sus actividades sin socavar las prácticas tradicionales, sino al contrario, que contriuya a su apreciación y conservación.</p> <p>Criterio 6.5: Seguridad laboral y adecuadas condiciones de trabajo Adicional a las normas laborales estandarizadas, las organizaciones de Biocomercio deberían cumplir con prácticas que garanticen la seguridad laboral y que ofrezcan condiciones de trabajo adecuadas para sus empleados.</p>
<p>Principio 7</p> <p>Claridad sobre la tenencia de la tierra, el uso y acceso a los recursos naturales y a los conocimientos</p> <p>Fundamental para el manejo responsable de la organización, pues así ésta podrá realizar inversiones a largo plazo e implementar las medidas de manejo que aseguren la sostenibilidad. Además, el tener claro sus derechos permite establecer las responsabilidades de cada actor en el manejo de las especies.</p>	<p>Criterio 7.1: Tenencia de la tierra de acuerdo con la normativa correspondiente La organización demuestra el derecho al uso de la tierra y de los recursos, teniendo a su vez en cuenta el principio 6. La organización no debería amenazar los derechos existentes de las comunidades locales; en de conflictos por el uso de la tierra, por ejemplo, que los derechos tradicionales estén en contradicción con los derechos legales, la organización debería tener mecanismos para resolver estos conflictos de manera satisfactoria para todas las partes.</p> <p>Criterio 7.2: El acceso a los recursos biológicos y genéticos para su uso sostenible con consentimiento informado previo y con base a condiciones mutuamente acordadas El Convenio de Diversidad Biológica requiere que el acceso y distribución de beneficios relacionados a los recursos genéticos sea con consentimiento informado previo, el cual se debería obtener de todas las autoridades nacionales relevantes en el país proveedor. Estos casos son usualmente regulados por las legislaciones nacionales, según los requisitos del Convenio de Diversidad Biológica.</p> <p>Criterio 7.3: El acceso al conocimiento tradicional se realiza con consentimiento informado previo De ser utilizado el conocimiento tradicional, la organización deberá seguir los procedimientos establecidos en las regulaciones de modo que reconozcan los derechos de los actores poseedores de dicho conocimiento, incluyendo sus derechos al consentimiento informado previo de todos los tomadores de decisiones relevantes, como comunidades locales e indígenas. El conocimiento ancestral tradicional se puede considerar como recurso aprovechable, y como tal debería ser valorado y retribuido apropiadamente.</p>

Fuente: Naciones Unidas; 2007. *Elaboración propia.*

Anexo 4

Reporte de información sobre cumplimiento de Biocomercio

Adquisición de conocimiento de pobladores

La idea partió de testimonios orales de habitantes del Centro poblado de Huamantanga – Áncash, quienes manifestaron que las anteriores generaciones utilizaban los tallos del Ullukullutu para el lavado del cabello percibiendo el retiro de suciedad. El tratamiento consistía en cortar los tallos para extraer una sustancia viscosa y de color claro, que con la fricción continua adquiriría una consistencia ligeramente espumosa, la cual aplicaban sobre el cabello para su lavado. En base a dicha información, se cobró interés por estudiar la planta, por tanto, se recolectaron muestras de la subespecie silvestre “Ullukullutu” y de la subespecie cultivada “olluco” con el objetivo de conocer los nombres científicos y realizar pruebas preliminares, en las fechas de mayo 2017 y junio del 2018 respectivamente **Figura 23, 24 de tesis**. Llevada a cabo la revisión sistemática, se decidió iniciar con la investigación que dio origen a un proyecto de tesis.

Coordinaciones con los actores involucrados

Se empezó con una entrevista al alcalde representante del Centro Poblado Huamantanga, a quien se le comunicó sobre los propósitos del estudio mediante un consentimiento informado previo **Anexo 5**; asimismo, los fines de la investigación fueron de conocimiento de los propietarios de los terrenos donde se llevaría a cabo la recolección (enero del 2019), firmando documentos como Acta de Licencia de Uso y Autorización para Colecta de *Ullucus tuberosus* **Anexo 6, 7 y 8**. Seguido a ello, se realizó la recolección de ambas subespecies para proseguir con la parte experimental de la tesis.

Base legal

En paralelo al desarrollo de la tesis, se indagó sobre los requisitos a tener en consideración para cumplir con la normativa vigente que autorice el uso de un recurso de la biodiversidad peruana. Dentro de ello se revisó la Decisión 391 “Régimen Común sobre Acceso a los Recursos Genéticos”⁸⁴, el Decreto Supremo N° 003-2009-MINAM⁸³ y la Ley N° 27811 “Ley que establece el régimen de protección de los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas vinculados a los recursos biológicos”⁵.

- **Requisitos:** como se puede apreciar en el **Figura 9, 19 (Sección Resultados)**, se acudió a instituciones tales como INDECOPI, INIA y SERFOR para la gestión de autorizaciones.

- En **INDECOPI** se buscó el Registro de Conocimientos Colectivos de Pueblos Indígenas, cuyos pasos a seguir están disponibles en su página web ingresando al siguiente link⁹⁵.
<https://www.indecopi.gob.pe/web/invenciones-y-nuevas-tecnologias/registro-de-conocimientos-colectivos-de-pueblos-indigenas> –
(Revisar los documentos presentados en el **Anexo 11**).
- En **SERFOR** se gestionó la **Autorización con fines de investigación científica de flora silvestre**, se revisó la información contemplada en la Guía Práctica – SERFOR, se solicitó los requisitos sobre el permiso de investigación de la planta vía e-mail investigacion@serfor.gob.pe y telefónica, asimismo se visitó la página **www.serfor.gob.pe**⁹⁶ (Revisar evidencias en el **Anexo 13**).
- En **INIA** se recopiló la documentación a fin de lograr la **Autorización con fines de investigación científica sin fines comerciales**. Se verificó que la planta de estudio sea oriunda del Perú y sea cultivada y Se revisó el link⁹⁷ <http://www.inia.gob.pe/requisitos-acceso-rrgg/> para completar los requisitos necesarios para la solicitud (Revisar evidencias en el **Anexo 15**).

(Continuación de Anexo 4)

- **Resultados:** a continuación, se detalla las respuestas obtenidas por parte de las Instituciones a las que se acudió para obtener los permisos correspondientes (*asimismo esto se plasma en Figura 19*):
 - **INDECOPI:** seguido de la presentación de la solicitud para el Registro de conocimiento colectivo de pueblos indígenas, se realizó seguimiento para que la evaluación del expediente siga su curso. Conforme fue avanzando la evaluación, fue necesaria una entrevista con la Coordinadora de conocimientos colectivos y variedades vegetales para la explicación de algunas observaciones y se conversó sobre el Proyecto de Investigación.

En dicha entrevista se dio a conocer que no se encontraba evidencia de que el Centro Poblado de Huamantanga fuera considerado un pueblo indígena, razón por la cual el expediente presentado en el que se solicitaba el registro de un conocimiento colectivo no podía seguir siendo evaluado, ya que la normativa vigente (Ley 27811)⁵ es aplicable a los pueblos indígenas. Al no encontrarse las evidencias necesarias, Indecopi envió una Cédula de Notificación dejando el trámite cerrado **Anexo 12**.

- **SERFOR:** se llevó a cabo la presentación de los formatos completos el 24 de Abril del 2019, por su parte, el equipo de SERFOR realizó la constatación exhaustiva de corroboración de datos de los participantes, asimismo fue verificada la información bibliográfica presentada y finalmente se obtuvo una respuesta aprobatoria el 19 de agosto del 2019 emitiéndose la Resolución de Dirección General N° 382-2019- MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS **Anexo 14**, logrando así obtener la autorización de investigación de la planta silvestre de *Ullucus tuberosus* “Ullukullutu”.

(Continuación de Anexo 4)

- **INIA:** se recopiló la documentación solicitada por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) con el fin de obtener su autorización. Por tratarse de un trabajo con fines de investigación se buscó la obtención de un Contrato Marco de Acceso (la definición puede revisarse en el Art.24 del D.S 003-2009-MINAM, ⁸³ el cual nos autorizaría el uso de la subespecie cultivada *Ullucus tuberosus*. Para ello se debió presentar ciertos requisitos contemplados en el Art.25, cuyos formatos fueron facilitados por correo por parte de INIA específicamente de la Sub Dirección de Regulación de la Innovación Agraria – SDRIA, perteneciente a la Dirección de Gestión de la Innovación Agraria – DGIA; asimismo dichos requisitos también están disponibles en la página web, ya mencionada líneas anteriores.

En paralelo se consultó la posibilidad de poder utilizar el recurso vegetal, objeto de estudio, con fines comerciales en caso los resultados de la investigación fueran óptimos. En este marco y amparado en el Art.26, INIA aclaró que el Contrato Marco de Acceso no aplicaba para dichos fines pues para ello se requería de un Contrato de Acceso y un Contrato Accesorio, cuyas definiciones se encuentran en el Art.20 y 21, respectivamente; y ya realizada la investigación, se podría gestionar una renegociación.

Como se mencionó al inicio, se procedió a completar los requisitos para la iniciación del permiso de investigación; sin embargo, el trámite no pudo ser iniciado por motivo de no contar con la “Carta de compromiso de la Institución Nacional de Apoyo”, cuya definición y funciones se encuentran respectivamente en el Art.18 y 19 del D.S 003-2009-MINAM⁸³.

Anexo 5

Consentimiento informado

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

León Rojas Ivette Katherine, Cotrina Ordoñez Yuly Yesenia

Documento de Consentimiento Informado para las Autoridades del Centro Poblado de Huamantanga.

Este Formulario de Consentimiento Informado se dirige al alcalde del Centro Poblado de Huamantanga a quien se le invita a colaborar en la investigación que tiene por título: "Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de *Ullucus tuberosus*, considerando principios del biocomercio".

Este Consentimiento Informado tiene dos partes:

Información sobre el estudio

Formulario de Consentimiento

Se le dará una copia del Documento completo de Consentimiento Informado

PARTE I: Información

Introducción

Nosotros somos Ivette Katherine León Rojas y Yuly Yesenia Cotrina Ordoñez, estudiantes egresadas de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Estamos investigando sobre el uso tradicional que los pobladores de este centro poblado le dan a los tallos del uliucullutuy, nombre común de la especie silvestre de *Ullucus tuberosus*. Asimismo, estamos investigando a la especie cultivada de *Ullucus tuberosus*, para comparar su semejanza en la aplicación del uso tradicional. Se ha recolectado testimonios del uso tradicional. Para este uso, los pobladores proceden de la siguiente manera: al ejercer un corte en los tallos se extrae una sustancia viscosa y de color claro, que con la fricción continua adquiere una consistencia espumosa, la cual aplican sobre el cabello pues perciben que es capaz de eliminar la suciedad además de dotar con brillo y suavidad al cabello del usuario; sin embargo, no existen estudios que permitan demostrar o validar este uso ancestral. Le voy a dar información e invitarle a darnos su

Figura 2. Consentimiento informado para la investigación

consentimiento para hacer uso de este conocimiento ancestral para fines de nuestra investigación. No tiene que decidir hoy si otorga su consentimiento o no en esta investigación. Antes de decidirse, puede hablar con alguien sobre la investigación. Puede que haya algunas palabras que no entienda. Por favor, me informa para darme tiempo a explicarle. Si tiene preguntas más tarde, puede preguntarme a mí o a miembros del equipo de investigación.

Propósito

El uso continuo del champú tiene un impacto en el estado saludable y estético del cabello, debido a esto los componentes en su formulación deben ser calificados como seguros; se ha encontrado que los surfactantes comerciales (tensioactivos aniónicos, tales como el laurilsulfato de sodio) empleados en la formulación de champús generan daño en el cabello, es por ello por lo que se plantea el reemplazo de este componente por otro que cumple la misma función, obtenido del tallo de *Ullucus tuberosus*.

Tipo de Intervención de Investigación

Para esta investigación se necesitará recolectar muestras vegetales (específicamente los tallos y hojas) de las especies silvestre y cultivada de la planta *Ullucus tuberosus*. Las cuáles serán llevadas al laboratorio para ser analizadas y procesadas. Se elaborará un extracto etanólico para extraer los componentes que podrían reemplazar a los tensioactivos comerciales. Seguido de esto, se formulará un champú natural en base a estos tensioactivos.

Selección de participantes

Estamos solicitando su consentimiento para poder utilizar esta información obtenida de testimonios de pobladores del Centro Poblado de Huamantanga – Ancash, para la realización de nuestra investigación.

Participación Voluntaria

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir otorgar o no su consentimiento. Usted puede cambiar de idea más tarde y dejar de participar aun cuando haya aceptado antes.

Figura 3. Consentimiento informado para la investigación (Continuación)

Duración

La investigación durará 7 meses en total. Durante ese tiempo lo mantendremos informado de los avances de la investigación.

Riesgos

No se contemplan riesgos en esta investigación.

Beneficios

Los beneficios serán detallados en el contrato de licencia de uso.

Confidencialidad

Con esta investigación, se realiza algo fuera de lo ordinario en su comunidad. Es posible que si otros miembros de otras comunidades, centros poblados, regiones u externos, saben que usted participa, puede que le hagan preguntas. La información que recojamos para este proyecto de investigación se mantendrá confidencial por lo que también solicitamos la confidencialidad de su parte, en beneficio de su comunidad y en beneficio de la investigación.

Derecho a negarse o retirarse

Usted no tiene por qué otorgar su consentimiento para el uso del conocimiento ancestral de su centro poblado en esta investigación si no desea hacerlo y el negarse a participar no le afectará en ninguna forma. Puede dejar de participar en la investigación en cualquier momento que desee.

A Quién Contactar

Este proyecto de investigación ha sido revisado y aprobado por la Unidad de Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. Si usted desea averiguar más sobre este comité, contacte a la Unidad de Investigación - **6197000 anexo 4823**.


Figura 4. Consentimiento informado para la investigación (Continuación)

PARTE II: Formulario de Consentimiento

He sido consultado para otorgar mi consentimiento sobre la utilización que le dan los pobladores del Centro Poblado de Huamantanga a los tallos de la especie silvestre de la planta *Ullucus tuberosus*, asimismo consiento que investiguen también la semejanza del uso tradicional en la especie cultivada.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente la utilización de este conocimiento ancestral de mi Centro Poblado en esta investigación y entiendo que tengo el derecho de retirar mi consentimiento de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera.

Nombre del Participante Jorge Eusebio Trujillo León

Firma del Participante 

Fecha 16 de Enero del 2019

Día/mes/año

Figura 5. Consentimiento informado para la investigación (Continuación)

Anexo 6

Acta de licencia de uso – *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “ullukullutu”

ACTA DE LICENCIA DE USO

En el Centro Poblado de Huamantanga perteneciente a la provincia de Huarí-Ancash. Siendo las 16:00 pm del día 17 de enero del 2019, nos encontramos con Marina Ortega de Auña, propietario(a) del terreno donde crece el ullucuyutuy.

Se le ha hecho de conocimiento que previo a esta visita se ha solicitado el permiso respectivo del alcalde, Jorge Trujillo León, del Centro Poblado de Huamantanga, por medio de un contrato de licencia de uso, en el cual se detalla el uso que se le dará al material vegetal que será recolectado y los beneficios que podría recibir la comunidad.

Luego de escuchar la información proporcionada, la propietaria autoriza la recolección de los tallos y hojas de ullucuyutuy para que puedan ser llevados a Lima.

Lima, 17 de enero del 2019.

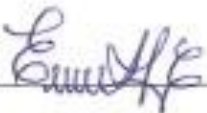

 _____ Ivette Katherine León Rojas Investigadora DNI: 72435168	 _____ Erasmo León Herrera Testigo DNI: 43256258
 _____ Propietari(a) del terreno del Centro Poblado Huamantanga	

Figura 6. Acta de licencia de uso - Ullukullutu

Anexo 7

Acta de licencia de uso – *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”

ACTA DE LICENCIA DE USO

En el Centro Poblado de Huamantanga, en el lugar denominado Hatupampa, perteneciente a la provincia de Huarí-Ancash. Siendo las 10:00 am del día 16 de enero del 2019, nos encontramos con la Sra. Eulogia Cruz Herrera, propietaria del terreno y sembrío de olluco, quínua y mashua. Nos encontramos aproximadamente a 3000 m.s.n.m, zona donde crece el olluco, materia de nuestra investigación. Esta zona de siembra se encuentra a hora y media de camino del Centro Poblado de Huamantanga.

La propietaria nos ha mostrado los terrenos donde siembra el olluco, se le ha hecho de conocimiento que previo a esta visita se ha solicitado el permiso respectivo del alcalde, Jorge Trujillo León, del Centro Poblado de Huamantanga, por medio de un contrato de licencia de uso, en el cual se detalla el uso que se le dará al material vegetal que será recolectado y los beneficios que podría recibir la comunidad.

Luego de escuchar la información proporcionada, la propietaria autoriza la recolección de los tallos y hojas de olluco para que puedan ser llevados a Lima.

Lima, 16 de enero del 2019.

 _____ Ivette Katherine León Rojas Investigadora DNI: 72435168	 _____ Erasmo León Herrera Testigo DNI: 43256256
 _____ Eulogia Cruz Herrera Propietaria del terreno del Centro Poblado Huamantanga	

Figura 7. Acta de licencia de uso - Olluco

Anexo 8

Autorización para colecta– *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”

AUTORIZACIÓN PARA COLECTA DE *Ullucus tuberosus*

Yo, **Eulogia, CRUZ HERRERA**, identificada con DNI N° 15706910, agricultor, con domicilio en el Centro Poblado de Huamantanga, distrito y provincia de Huari del departamento Áncash - Perú, poseedora del fundo "Hatupampa", "ogshapampa", ubicado en la parte alta - zona jalca del mencionado centro poblado donde me traslado por temporada para el cultivo del olluco; papa, oca, etc., previa información brindada por las señoritas: Ivette Katherine LEÓN ROJAS y Yuly Yesenia COTRINA ORDOÑEZ, brindo mi consentimiento, para que proceda a realizar las respectivas colectas de hojas y tallos de la planta *Ullucus tuberosus* del fundo líneas arriba mencionado, para ser utilizado en la investigación en materia de tesis: **"Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de *Ullucus tuberosus*, considerando principios del biocomercio."**, cuyos estudios y/o análisis se efectuarán en los laboratorios del Departamento de Farmacotecnia y Administración Farmacéutica (DAFAF) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - Universidad Nacional Mayor de San Marcos; en ese sentido, declaro que por las muestras brindadas no he recibido pago alguno. Además de lo antes indicado, mencionar que por medio del presente se acordó que al ser

Proveedora del recurso biológico que contiene el recurso genético objeto de investigación, las Srtas. Ivette Katherine León Rojas y Yuly Yesenia Cotrina Ordoñez en su condición de solicitantes de acceso, nos brindarán como beneficio no monetario, una charla sobre el procesamiento de la muestra vegetal para la obtención del producto, este beneficio se hará efectivo una vez que las solicitantes cuenten con la autorización de acceso a los recursos genéticos por parte del Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA (Perú) y hayan ejecutado su proyecto.

Centro Poblado de Huamantanga, 19 de abril del 2019

 Yuly Cotrina Ordoñez DNI: 47951186 Solicitante de acceso +51942313127	 Ivette León Rojas DNI: 72435168 Solicitante de Acceso +51934091349
 EULOGIA CRUZ HERRERA DNI: 15706910 Proveedor del recurso Celular: 952180992	



Figura 8. Autorización para recolección de “olluco”

Anexo 9

Evaluación detallada de cumplimiento de PYC BC – escala tipo Likert

Tabla 3. Evaluación detallada de cumplimiento de PYC BC – escala tipo Likert

PRINCIPIOS		Criterios	NIVEL DE CUMPLIMIENTO	ESCALA TIPO LIKERT						PUNTAJES * N FINAL
				No Aplica (N/A)	No se cumple (0)	Cumplimiento bajo (1)	Cumplimiento medio (2)	Cumplimiento alto (3)	Cumplimiento muy alto (4)	
Principio 1	Conservación de la biodiversidad	1.1	- Obtención de certificados de especies vegetales. - Al ser identificadas, nos permite conocer su nombre científico y al saber que se trata de una especie de consumo habitual, no se amenazaría su conservación. (3) '- Se evidenció su cumplimiento mediante los trámites realizados en organizaciones involucradas en la protección de especies vegetales (INIA, SERFOR), así como en la participación activa de estas; siendo el primer paso la obtención de los certificados de identificación de las muestras recolectadas de subespecies de <i>Ullucus tuberosus</i> , los cuales sirvieron como base para la presentación de solicitud en SERFOR, cuyo producto fue la obtención del permiso de investigación, y en los trámites por iniciarse en INIA. Debemos rescatar que SERFOR, posee un base legal que la califica como organismo especializado y encargado de otorgar la autorización para extracción de recursos forestales silvestres con fines de investigación científica. E INIA, por su parte, ente rector del Sistema Nacional de Innovación Agraria como Organismo Técnico Especializado (OTE) adscrito al Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI), contribuye al crecimiento económico equitativo, competitivo y sostenible a través de la provisión de servicios especializados (investigación y transferencia de tecnología) en materia de Innovación Agraria. (3) RESULTADOS: Autorización con fines de investigación científica de flora silvestre: SERFOR y Documentación de Autorización con fines de investigación científica sin fines comerciales en INIA.					3		3
		1.2	-Según la Resolución de Dirección General N°382-2019-MINAGRI-SERFOR. Se manifiesta en el Art.1 que la autorización es con fines de investigación de flora silvestre y sin acceso a los recursos genéticos. (2) Como se respetó el permiso de investigación otorgado se considera un nivel de cumplimiento promedio.				2			
		1.3	-La recolección de los tallos de las especies vegetales no afecta a nivel ecosistémico. (4)						4	
		1.4	-La recolección de los tallos de las especies vegetales se realizó siguiendo el plan autorizado (proyecto de investigación), respetando la cantidad y la especie identificada en el espacio geográfico determinado en coordinación con las autoridades competentes, SERFOR (especie silvestre) e INIA (especie cultivada) (3)					3		

Nota: (*): La puntuación final de cumplimiento de principios y criterios del biocomercio, está en función a lo planteado dentro del alcance del presente estudio de investigación, *ceteris paribus*, delimitado por el objetivo principal. **Fuente:** elaboración propia.

Tabla 3. Evaluación detallada de cumplimiento de PYC BC – escala tipo Likert

PRINCIPIOS	Criterios	NIVEL DE CUMPLIMIENTO	ESCALA TIPO LIKERT						PUNTAJ ON *
			No Aplica (N/A)	No se cumple (0)	Cumplimiento bajo (1)	Cumplimiento medio (2)	Cumplimiento alto (3)	Cumplimiento muy alto (4)	
Principio 2	Uso sostenible de la biodiversidad	2.1	N/A						4
		2.2					3		
		2.3	N/A						
		2.4						4	

Nota: (*): La puntuación final de cumplimiento de principios y criterios del biocomercio, está en función a lo planteado dentro del alcance del presente estudio de investigación, *ceteris paribus*, delimitado por el objetivo principal. **Fuente:** elaboración propia.

Tabla 3. Evaluación detallada de cumplimiento de PYC BC – escala tipo Likert

PRINCIPIOS	Criterios	NIVEL DE CUMPLIMIENTO	ESCALA TIPO LIKERT						PUNTAJ ON * FINAL
			No Aplica (N/A)	No se cumple (0)	Cumplimiento bajo (1)	Cumplimiento medio (2)	Cumplimiento alto (3)	Cumplimiento muy alto (4)	
Principio 3	Distribución justa y equitativa de beneficios derivados del uso de la biodiversidad	3.1					3		2
		3.2	N/A						
		3.3			1				
Principio 4	Sostenibilidad socio-económica (de gestión, productiva, financiera y de mercado)	4.1	N/A						1
		4.2	N/A						
		4.3			1				
		4.4	N/A						
		4.5	N/A						

Nota: (*): La puntuación final de cumplimiento de principios y criterios del biocomercio, está en función a lo planteado dentro del alcance del presente estudio de investigación, *ceteris paribus*, delimitado por el objetivo principal. **Fuente:** elaboración propia.

Tabla 3. Evaluación detallada de cumplimiento de PYC BC – escala tipo Likert

PRINCIPIOS	Criterios	NIVEL DE CUMPLIMIENTO	ESCALA TIPO LIKERT						PUNTAJ ÓN FINAL *
			No Aplica (N/A)	No se cumple (0)	Cumplimiento bajo (1)	Cumplimiento medio (2)	Cumplimiento alto (3)	Cumplimiento muy alto (4)	
Principio 5	Cumplimiento de la legislación nacional e internacional	5.1	- La iniciativa de Registro de Conocimientos Colectivos de Pueblos Indígenas: Indecopi. (4) Al presentar la solicitud ante Indecopi, se pretendía registrar el conocimiento del uso tradicional que le daban los pobladores a los tallos de <i>Ullucus tuberosus</i> subespecie silvestre; de este modo, se buscó el reconocimiento de los derechos de los actores poseedores de dicho conocimiento incluyendo sus derechos al consentimiento informado previo. Si bien esta solicitud siguió su proceso de evaluación, no se obtuvo un documento que respaldara el registro del conocimiento debido a la falta de pruebas de que el lugar de donde se obtuvo dicho conocimiento; es decir, el Centro Poblado de Huamantanga, fuera considerado una comunidad indígena y como el registro se encuentra amparado bajo la Ley 27811, Ley que establece el régimen de protección de los conocimientos colectivos de los pueblos indígenas vinculados a los recursos biológicos, no existiría ninguna transgresión con respecto a la normativa nacional. - Autorización con fines de investigación científica sin fines comerciales en INIA. (3) - Autorización con fines de investigación científica de flora silvestre: SERFOR (4)					4	3
		5.2	-Se revisó la Decisión 391 "Régimen Común sobre Acceso a los Recursos", la cual regula el acceso a los recursos genéticos de los Países Miembros y sus productos derivados(2)			2			
Principio 6	Respeto de los derechos de los actores involucrados en el Biocomercio	6.1	-No se consideró la comercialización, pero se comunicó al alcalde que se realizaría una investigación de la especie <i>Ullucus tuberosus</i> . Quedando en evidencia el reconocimiento y respeto hacia los involucrados. (1)			1			4
		6.2	-Se puso en manifiesto en este estudio que el origen de la investigación partió de los conocimientos brindados por los pobladores de la comunidad, además se presentó un consentimiento informado al Alcalde para el aprovechamiento de la especie <i>Ullucus tuberosus</i> sin afectar su conservación y apoyando a la reapreciación de dicho recurso al atribuirle otra propiedad a la ya conocida. La iniciativa de Registro de Conocimientos Colectivos de Pueblos Indígenas: Indecopi. (3)				3		
		6.3	- Entrevista con Alcalde del Centro Poblado Huamantanga – Huari Áncash. Explicación del proyecto de investigación. (Presentación de consentimiento informado). (4)					4	
		6.4	-La iniciativa de Registro de Conocimientos Colectivos de Pueblos Indígenas: Indecopi. (4) -Se investiga el aprovechamiento de la especie <i>Ullucus tuberosus</i> sin afectar su conservación y apoyando a la reapreciación de dicho recurso al atribuirle otra propiedad a la ya conocida.				3		
		6.5	-Por tratarse de un trabajo orientado a la investigación, el criterio 6.5 no podría ser aplicado. Al no tratarse de una organización, no se consideró contratación de personal. (N/A)	N/A					

Nota: (*): La puntuación final de cumplimiento de principios y criterios del biocomercio, está en función a lo planteado dentro del alcance del presente estudio de investigación, *ceteris paribus*, delimitado por el objetivo principal. **Fuente:** elaboración propia.

Tabla 3. Evaluación detallada de cumplimiento de PYC BC – escala tipo Likert

(Continuación de Anexo 9)

PRINCIPIOS	Criterios	NIVEL DE CUMPLIMIENTO	ESCALA TIPO LIKERT						PUNTAJ ÓN FINAL *
			No Aplica (N/A)	No se cumple (0)	Cumplimiento bajo (1)	Cumplimiento medio (2)	Cumplimiento alto (3)	Cumplimiento muy alto (4)	
Principio 7 Claridad sobre la tenencia de la tierra, el uso y acceso a los recursos naturales y a los conocimientos	7.1	-Se presentó un documento "Autorización para colecta" antes de proceder con la recolección. (4)						4	3
	7.2	- El consentimiento informado previo aprobado por el alcalde. -Trámites realizados con los Organismos Competentes que se encargan de proteger la biodiversidad peruana (SERFOR-INIA). No se obtuvo el permiso de INIA por no contar con una INA (Institución Nacional de Apoyo) (2)				2			
	7.3	- Entrevista con Alcalde del Centro Poblado Huamantanga – Huari Áncash. Explicación del proyecto de investigación. (Presentación de consentimiento informado). - La iniciativa de Registro de Conocimientos Colectivos de Pueblos Indígenas: Indecopi. - Se empezó con una entrevista con el alcalde representante del Centro Poblado Huamantanga, a quien se le comunicó sobre los propósitos de la investigación mediante un consentimiento informado previo; ya que el conocimiento que iba a ser utilizado fue obtenido de los mismos pobladores de la zona. -Al presentar la solicitud para la evaluación de Registro de Conocimientos Colectivos Indígenas ante Indecopi, se pretendía registrar el conocimiento del uso tradicional que le daban los pobladores a los tallos de <i>Ullucus tuberosus</i> subespecie silvestre; de este modo, se buscó el reconocimiento de los derechos de los actores poseedores de dicho conocimiento incluyendo sus derechos al consentimiento informado previo. Si bien esta solicitud siguió su proceso de evaluación, no se obtuvo un documento que respaldara el registro del conocimiento debido a la falta de pruebas de que el lugar de donde se obtuvo dicho conocimiento; es decir, el Centro Poblado de Huamantanga, fuera considerado una comunidad indígena y como el registro se encuentra amparado bajo la Ley 27811, no existiría ninguna transgresión con respecto a la normativa nacional.						4	

Nota: (*): La puntuación final de cumplimiento de principios y criterios del biocomercio, está en función a lo planteado dentro del alcance del presente estudio de investigación, *ceteris paribus*, delimitado por el objetivo principal. **Fuente:** *elaboración propia*.

Mapa del lugar de recolección de la muestra

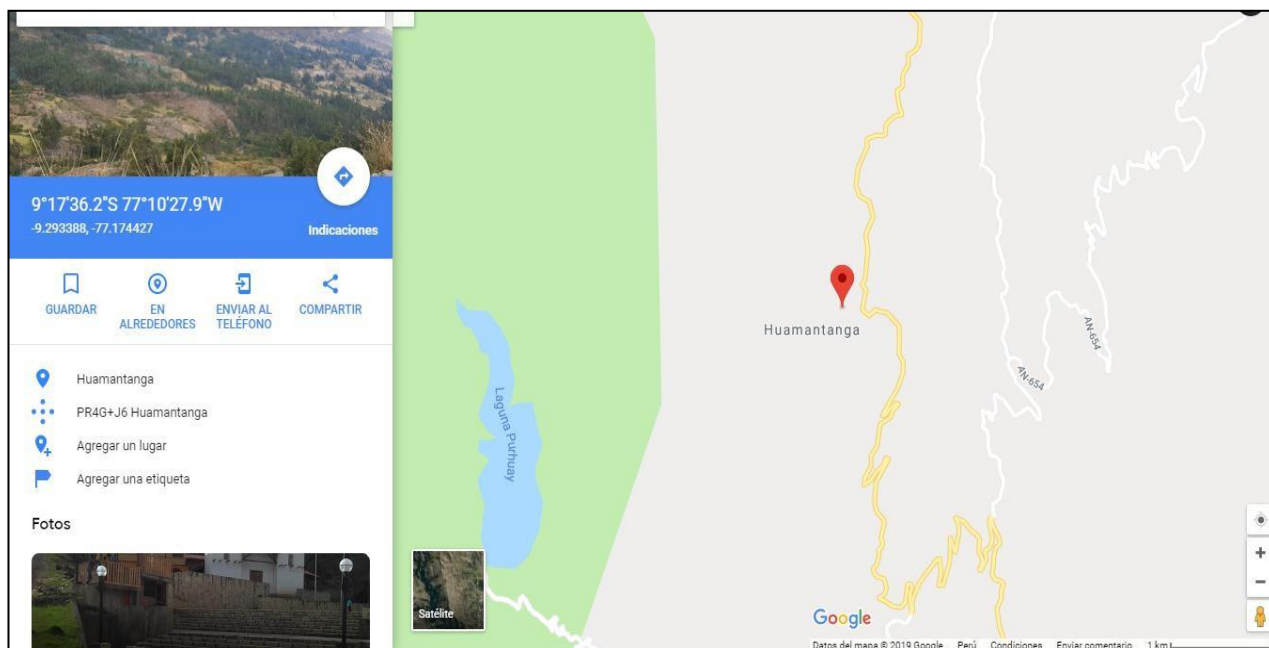


Figura 9. Mapa del lugar de recolección de muestras. **Fuente:** MAPS

<https://www.google.com/maps/place/9%C2%B017'36.2%22S+77%C2%B010'27.9%22W/@-9.2933823,-77.1919363,14z/data=!4m1!1m7!3m6!1s0x91a8dfeee0721b53:0x47fa70accbd0a89!2sHuamantanga!3b1!8m2!3d->

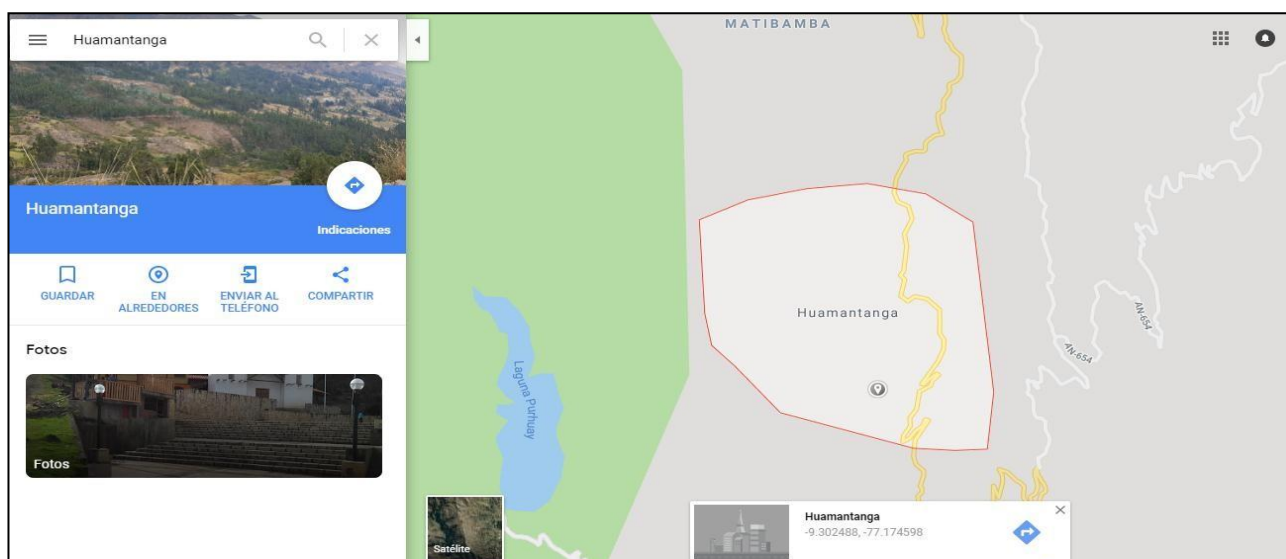


Figura 10. Coordenadas geográficas del lugar de recolección de la muestra. **Fuente:**

<https://www.google.com/maps/place/9%C2%B017'36.2%22S+77%C2%B010'27.9%22W/@-9.2933823,-77.1919363,14z/data=!4m14!1m7!3m6!1s0x91a8dfcee0721b53:0x47fa70accbd0a8912sHuamantanga!3b1!8m2!3d-9.294987!4d-77.1772737!3m5!1s0x0:0x0!7e2!8m2!3d-9.293388!4d-77.1744275>

COORDENADAS: LATITUD – LONGITUD 9°17'17.1''S 77°10'39.2''W

Anexo

Procedimiento ante INDECOPI

Según la **Ley 27811** – “LEY QUE ESTABLECE EL RÉGIMEN DE PROTECCIÓN DE LOS CONOCIMIENTOS COLECTIVOS DE LOS PUEBLOS INDÍGENAS VINCULADOS A LOS RECURSOS BIOLÓGICOS”,⁵ se siguió con los pasos requeridos para evaluar que el conocimiento utilizado para investigación de la presente tesis, no sea un conocimiento protegido por pertenecer a un pueblo indígena. Para ello se revisó la ley 27811 y se prosiguió con las indicaciones que se mencionan en dicha ley.

En primer lugar, se tuvo una entrevista con el Alcalde del Centro Poblado de Huamantanga – Áncash. En la cual se solicitó permiso para recolectar una muestra vegetal perteneciente a su Centro Poblado. Se presentó un consentimiento informado previo. Con la autorización del alcalde, se procedió a presentar la solicitud de registro ante Indecopi, con fecha 4 de febrero del 2019, que se muestra en la siguiente imagen.

Indecopi **Solicitud de Registro Nacional de Conocimientos Colectivos de los Pueblos Indígenas**

Solicitamos a la Dirección de Inversiones y Nuevas Tecnologías que registre el conocimiento colectivo de nuestro pueblo indígena en el Registro Nacional: ☐ Público ☒ Confidencial

1. Datos Generales

☐ COMUNIDAD CAMPESINA ☐ COMUNIDAD NATIVA

MESA DE PARTES

Centro Poblado de Huamantla

NOMBRE: **Huari** ETNIA: **Ancash**

DISTRITO: **Huari** PROVINCIA: **Huari** DEPARTAMENTO: **Ancash**

NÚMERO DE COMUNEROS: **780** N° DE REGISTRO PÚBLICO: **990642199**

TELÉFONO O FORMA DE COMUNICACIÓN: **990642199**

(Si hay más de una comunidad, colocar los datos en una hoja aparte)

2. Organización Representativa

• Marcar a través de qué organización inscriben el conocimiento:

☒ La propia comunidad campesina o nativa

☐ Federación indígena Dirección / Teléfono: _____

☐ Otra organización: _____ Dirección / Teléfono: _____

• Persona designada para realizar la inscripción:

Ivette Katherine León Rojas CUI: **72435168**

NOMBRE: **Lima - San Martín de Porres** EN CASO DE SEÑOR: **934091349**

COMUNIDAD DE PROCEDENCIA: **M2 04 Lote 56 Urb. San Diego S.M.P.** DIRECCIÓN / TELÉFONO: **934091349**

3. Planta o animal

• Nombre del recurso biológico -planta o animal- sobre el que se va a inscribir un conocimiento indígena (puede ser el nombre nativo):

Willuus fiberosus Caldas subespecie aborigenae "willuus silvestre" - willuycullutuy

4. Usos que le dan a la planta o animal (marcar)

☐ Para usar en casa y/o persona ☐ Para teñir

☐ Para calmar la fiebre ☐ Para hacer tejidos

☐ Para calmar dolores de estómago ☐ Para dar fuerza

☐ Para calmar dolores musculares o de huesos ☐ Para enfermedades de la piel

☐ Para curar heridas ☒ Otro: **Lavar el cabello**

5. Marcar documentos que acompañan

• OBLIGATORIOS

☐ Descripción del conocimiento colectivo (en hoja aparte)

☐ Acta de Acuerdo de registrar el conocimiento.

☐ Muestra de la planta o animal: ☐ Fiecas ☐ Fotografías o dibujos

• COMPLEMENTARIOS

☐ Documento -poder- que designa al representante autorizado a inscribir el conocimiento.

☐ Padrón de comuneros.

☐ Datos de otras comunidades que poseen el conocimiento.

☐ Copias de investigaciones científicas sobre el conocimiento.

☐ Croquis de ubicación de la comunidad.

☐ Mitos, dibujos relacionados al conocimiento.

☐ Otros documentos: _____

• Fecha

DÍA: **04** MES: **Febrero** AÑO: **2019**

Ivette Katherine León Rojas

FIRMA

Ivette Katherine León Rojas

PERSONA DESIGNADA PARA REALIZAR LA INSCRIPCIÓN

Figura 11. Solicitud de registro presentada en Indecopi.

Asignación de N° de expediente a la solicitud presentada en Indecopi

*Se asignó un N° de expediente en la fecha 12 de febrero del 2019

The document is a formal communication from Indecopi. At the top left is the Indecopi logo and name. Below it, the full name of the institution and its address are listed. To the right, the specific directorate is identified. The date of the document is stated. The file number and presentation date are provided. The applicant and their representative are named. The address of the directorate is given. A paragraph explains that the collective knowledge request presented on February 4, 2019, has been assigned the file number 000331-2019/DIN. The document is signed by Sara Quinteros MacPartida, who is the Coordinator of Collective Knowledge and Vegetable Varieties, within the Directorate of Inventions and New Technologies at Indecopi.

Indecopi
INSTITUTO NACIONAL DE DEFENSA DE LA
COMPETENCIA Y DE LA PROTECCIÓN DE LA
PROPIEDAD INTELECTUAL
Calle de la Prosa N° 104, San Borja

**DIRECCIÓN DE INVENCIÓNES Y
NUEVAS TECNOLOGÍAS**

Lima, 12 de febrero de 2019

Exp. N° : 000331-2019/DIN
Fecha de Presentación: 2019-02-04

SOLICITANTE(S) : COMUNIDAD CAMPESINA CENTRO POBLADO DE HUAMANTANGA
REPRESENTANTE : Ivette Katherine LEÓN ROJAS
DIRECCIÓN : Mz. B4, Lote 58, Urb. San Diego, SAN MARTÍN DE PORRES - LIMA - LIMA

Se le comunica que a la solicitud de Conocimientos Colectivos presentada el día 04 de febrero de 2019, cuya copia se adjunta, se le ha asignado el N° de Expediente 000331-2019/DIN

Sara Quinteros MacPartida
SARA QUINTEROS MACPARTIDA
Coordinadora de Conocimientos Colectivos
y Variedades Vegetales
Dirección de Invencciones y
Nuevas Tecnologías
INDECOPI

Figura 12. Documento que evidencia la asignación de N° de expediente en Indecopi.

Documento enviado por Indecopi durante la evaluación del expediente

Documento enviado con fecha 7 de marzo del 2019

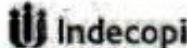
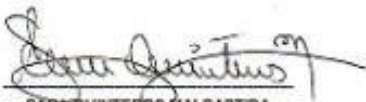
 Indecopi INSTITUTO NACIONAL DE DEFENSA DE LA COMPETENCIA Y DE LA PROTECCIÓN DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL Calle de la Prosa 104, San Borja	DIRECCIÓN DE INVENCIÓNES Y NUEVAS TECNOLOGÍAS
SOLICITANTE: CENTRO POBLADO DE HUMANANTANGA REPRESENTANTE: IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS DOMICILIO: MZ. B4, LOTE 58, URB. SAN DIEGO, SAN MARTÍN DE PORRES - LIMA	
Expediente: 000331-2019/DIN Modalidad: Conocimientos Colectivos Lima, 7 de marzo de 2019	
Visto en fecha el expediente provéase lo siguiente:	
<ul style="list-style-type: none">De acuerdo con lo dispuesto en el artículo 20 de la Ley 27811, que establece el Régimen de protección de los Conocimientos Colectivos de los Pueblos Indígenas vinculados a los Recursos Biológicos, <i>"las solicitudes de registro de conocimientos colectivos de los pueblos indígenas se presentarán ante el Indecopi, a través de sus organizaciones representativa (el resaltado es nuestro), y deberán contener:</i><ul style="list-style-type: none">a) <i>Identificación del pueblo indígena que solicita el registro de sus conocimientos;</i>b) <i>identificación del representante;</i>c) <i>Indicación del recurso biológico sobre el cual versa el conocimiento colectivo, pudiendo utilizarse el nombre indígena,</i>d) <i>Indicación del uso o usos que se da al recurso biológico en cuestión,</i>e) <i>Descripción clara y completa del conocimiento colectivo objeto de registro; y</i>f) <i>Acta en la que figure el acuerdo de registro de registrar el conocimiento por parte del pueblo indígena."</i>De la revisión de la presente solicitud se ha verificado que la solicitante no ha cumplido con presentar o acreditar los requisitos señalados en los literales a) y f), por lo tanto: Cumpla con identificar y acreditar al Pueblo Indígena que está solicitando el registro del conocimiento colectivo, y presentar copia del acta en la que figure el acuerdo de registrar el conocimiento por parte del pueblo indígena, en el plazo de seis meses, contados desde la recepción de la presente notificación, bajo apercibimiento de declarar la solicitud en ABANDONO de acuerdo a lo establecido en el artículo 21 de la citada norma².	
 SARA QUINTEROS MALPARTIDA Coordinadora de Conocimientos Colectivos y Variedades Vegetales Dirección de Invenções y Nuevas Tecnologías INDECOPÍ	
<p>¹ Artículo 20 de la Ley 27811</p> <p>² El Indecopi verificará, en el plazo de diez (10) días de presentada la solicitud, que la misma consigne todos los datos especificados en el artículo anterior.</p> <p>En caso de que se haya producido alguna omisión, notificará al pueblo indígena que solicita el registro a efectos de que complete la solicitud, dentro del plazo de seis (6) meses, prorrogables a su solicitud, bajo apercibimiento de declarar el abandono de la solicitud.</p> <p>Una vez que el Indecopi haya verificado que la solicitud consigne todos los datos especificados en el artículo anterior, procederá a registrar el conocimiento colectivo en cuestión.</p>	

Figura 13. Documento enviado por Indecopi

Cargo de la documentación adicional enviada a Indecopi

RECIBIDO
2019 MAR 11 AM 10:07

Solicita: Anexar documento que se indica.

SESA DE PARTES

Señores del Área de Dirección de Inveniciones y Nuevas Tecnologías INDECOPI


Yo, Ivette Katherine León Rojas, con DNI 72435168, representante de la Comunidad Campesina Centro Poblado de Huamantanga Provincia de Huari, Departamento de Áncash, domiciliada en Mz B4 Lt. 58 Urb. San Diego - San Martín de Porres. Ante Ud. respetuosamente me dirijo y digo:

Que deseando anexar al expediente N° 000331-2019/DIN con fecha 2019-02-04 los documentos que a continuación indico, recorro a su despacho a fin de solicitar tenga a bien anexar y evaluar los siguientes documentos:

1. Contrato de licencia de uso
2. Traducción a quechua del contrato de licencia de uso
3. Identificación de las partes del contrato:
 - Copia DNI de Ivette León Rojas
 - Copia DNI de Yuly Cotrina Ordoñez
 - Copia de DNI de Jorge Trujillo León
4. Constancia N° 069-USM-2017 de identificación taxonómica de la especie *Ullucus tuberosus* sub especie silvestre.
5. Constancia N° 226-USM-2017 de identificación taxonómica de la especie *Ullucus tuberosus* sub especie cultivada.
6. Resolución de Decanato N°00776-FFB-D-2018 Aprobación de proyecto de tesis.

Por lo expuesto,

Ruego a Ud. acceder a mi solicitud por ser de justicia.



Ivette Katherine León Rojas

Figura 14. Documentos enviados a Indecopi como complemento a la solicitud presentada.

(Continuación de Anexo 11)

**Documento enviado luego de la entrevista del 15 de marzo 2019 en
Indecopi**



 Indecopi INSTITUTO NACIONAL DE DEFENSA DE LA COMPETENCIA Y DE LA PROTECCIÓN DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL Calle de la Prosa 104, San Borja	DIRECCIÓN DE INVENCIONES Y NUEVAS TECNOLOGÍAS
SOLICITANTE: CENTRO POBLADO DE HUMANANTANGA	
REPRESENTANTE: IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS	
DOMICILIO: MZ. B4, LOTE 58, URB. SAN DIEGO, SAN MARTÍN DE PORRES - LIMA	
Expediente: 000331-2019/DIN Modalidad: Conocimientos Colectivos Lima, 3 de mayo de 2019	
<p>Visto en fecha el expediente y en atención al escrito de fecha 11 de marzo de 2019, mediante el que se solicita anexar al expediente documentación remitida y evaluarla: Provéase en su oportunidad.</p>	
 SARA QUINTEROS MALPARTIDA Coordinadora de Conocimientos Colectivos y Variedades Vegetales Dirección de Invenciones y Nuevas Tecnologías INDECOPI	

Figura 15. Documento enviado luego de la entrevista en Indecopi

Anexo 12

Documento enviado por INDECOPI como conclusión del trámite

A

Indecopi
INSTITUTO NACIONAL DE DEFENSA DE LA
COMPETENCIA Y DE LA PROTECCIÓN DE LA
PROPIEDAD INTELECTUAL
Calle de la Frase N° 184 - San Rocco

**DIRECCIÓN DE INVENCIÓNES Y
NUEVAS TECNOLOGÍAS**

CÉDULA DE NOTIFICACIÓN

Solicitante: COMUNIDAD CAMPESINA CENTRO POBLADO DE HUAMANTANGA

Representante: LEÓN ROJAS, Ivette Katherine

Domicilio: MZ. B4, Lote 58, Urb. San Diego, SAN MARTÍN DE PORRES - LIMA - LIMA

Expediente N° 00331-2019/DIN

Lima, 11 de noviembre de 2019

En la fecha, la Dirección de Invencciones y Nuevas Tecnologías del Indecopi, procede a notificar la Resolución N° 003281-2019/DIN-INDECOPI de fecha 11 de noviembre de 2019 y se pone en conocimiento del solicitante que contra la referida resolución procede interponer los recursos administrativos de RECONSIDERACIÓN o APELACIÓN, dentro del plazo de quince (15) días hábiles, contados a partir del día siguiente a la fecha de recepción de la presente.

[Firma]
JAIHEL ALFARO RAMÍREZ
Coordinador Legal
Dirección de Invencciones y
Nuevas Tecnologías
INDECOPI

Constancia de recepción
Nombre:
L.E. / DNI N°:
Vínculo:
Firma y/o sello:
Fecha:
Lugar:
Firma:

B

En el presente caso, tomando en cuenta que el plazo de 6 meses otorgado mediante mandato de fecha 7 de marzo de 2019, recibido por la solicitante el 12 de marzo de 2019, venció el 12 de setiembre de 2019, corresponde hacer efectivo el apercibimiento y declarar el abandono de la presente solicitud.

3. CONCLUSIÓN DEL ANÁLISIS

Atendiendo a lo expuesto y a lo establecido en el artículo 21 de la Ley 27811, dado que la solicitante no cumplió con presentar lo requerido dentro del plazo otorgado mediante mandato de fecha 7 de marzo de 2019, recibido por la solicitante el 12 de marzo de 2019, corresponde declarar el abandono de la solicitud.

La presente Resolución se emite en aplicación de las normas legales antes mencionadas y en uso de las facultades conferidas por los artículos 37 y 40 de la Ley de Organización y Funciones del Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (INDECOPI) sancionada por Decreto Legislativo N° 1033.

4. RESOLUCIÓN DE LA DIRECCIÓN DE INVENCIÓNES Y NUEVAS TECNOLOGÍAS

DECLARAR el abandono de la solicitud de conocimiento colectivo vinculado con el recurso biológico OLLUCO DEL ZORRO cuyo nombre científico es *Ullucus tuberosus* Caldas (Familia Basellaceae) presentada por el CENTRO POBLADO DE HUAMANTANGA, por las razones expuestas ordenándose el archivo de expediente.

Regístrese y Comuníquese

[Firma]
MANUEL CASTRO CALDERÓN
Director de Invencciones y
Nuevas Tecnologías
INDECOPI

IONES Y NUEVAS TECNOL
OM/mal

Figura 16. Cédula de notificación enviada por Indecopi. A. Página uno. B. Página dos

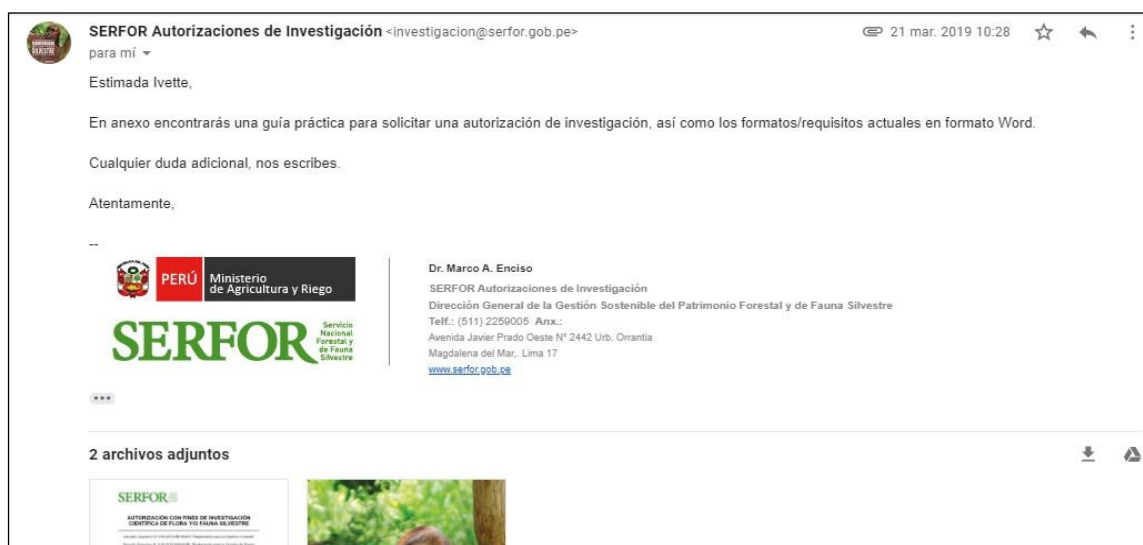
Anexo 13

Procedimiento para autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre – SERFOR

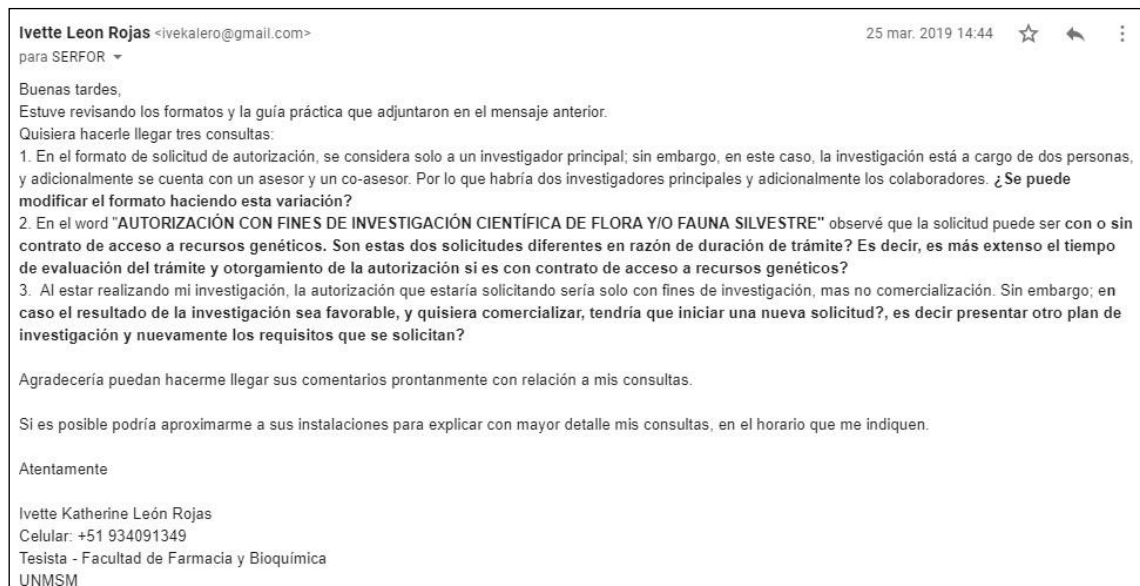
1.- Se realizó una consulta vía e-mail (investigacion@serfor.gob.pe) para solicitar información sobre el permiso de investigación de la planta *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre estudiada en la tesis.



2.- SERFOR, respondió el correo adjuntando un formato con los requisitos para iniciar con el trámite de permiso y una guía informativa. Asimismo, se revisó la página **www.serfor.gob.pe**⁹⁶ para mayor información.



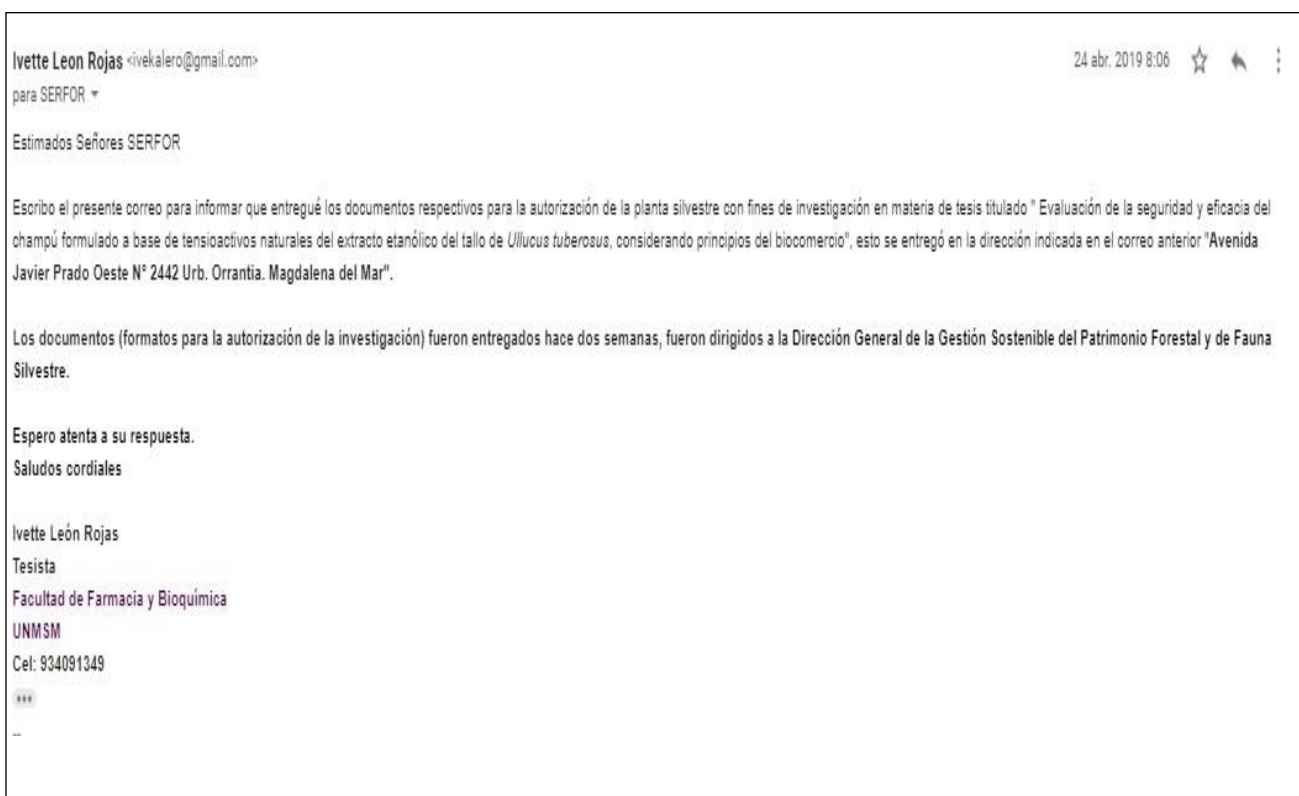
3.- Se envió un correo para consultar algunas interrogantes referentes a la presentación de la solicitud de permiso.



4.- SERFOR respondió a las consultas vía e-mail.



5.- Se completó el formato en Word con los requisitos solicitados para el permiso de investigación (formatos enviados por SERFOR) y se entregó el 24 de abril del 2019 en la dirección siguiente: Avenida Javier Prado Oeste N° 2442 Urb. Orrorantia. Magdalena del Mar.



6.- La resolución fue otorgada con fecha del 19 de agosto del 2019.

Anexo 14

Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS

 <div style="display: inline-block; vertical-align: middle;">PERÚ Ministerio de Agricultura y Riego</div>	
<i>"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"</i> <i>"Año de la Lucha Contra la Corrupción y la Impunidad"</i>	
<p>Lima, 19 AGO. 2019</p> <p><u>CARTA N° 436 -2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS</u></p> <p>Señora IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS Investigadora Calle 27, Mz. B4, Lt. 58 – Urb. San Diego - Etapa 2 <u>San Martín de Porres.-</u></p> <p>Asunto: Remito Resolución de Dirección General N° 382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS</p> <p>Tengo el agrado de dirigirme a usted, para remitirle adjunto copia fedateada de la Resolución de Dirección General N° 382-2019-MINAGRI-SERFOR DGGSPFFS, para su conocimiento y fines; mediante el cual se resuelve, OTORGAR la autorización con fines de investigación de flora silvestre fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta, y sin acceso a los recursos genéticos, con fines de realizar la extracción etanólica del tallo, a la señora IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS identificada con DNI N° 72435168, correspondiéndole el Código de Autorización N° AUT-IFL-2019-036.</p> <p>Es propicia la ocasión para expresarle los sentimientos de mi consideración.</p> <p>Atentamente,</p> <div style="text-align: center;"> Miriam Mercedes Cerdán Quiliano Directora General Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR</div> <div style="text-align: right;"><p>CUT: 24870-2019</p><p></p></div> <div style="text-align: left;"><p>Av. Javier Prado Oeste N° 2442 Urb. Oromantía, Magdalena del Mar – Lima 17 T. (511) 225-9005 www.serfor.gob.pe www.minagri.gob.pe</p></div>	

Figura 17. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS.



RESOLUCIÓN DE DIRECCIÓN GENERAL N° 382 -2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS

Lima, 14 AGO. 2019

MATERIA: Solicitud de Autorización con fines de investigación de flora silvestre,

ADMINISTRADA: IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS

VISTOS:

La Carta s/n, registrada con CUT: 00024970-2019, de fecha 27 de mayo de 2019 (fs. 01), conteniendo la solicitud de autorización con fines de investigación científica fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta de flora, presentada por la señora **Ivette Katherine León Rojas**, identificada con DNI N° 72435168 (en adelante, la administrada), correos electrónicos de fecha 16 y 17 de julio de 2019 (fs. 30) y el Informe Técnico N° 0633-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS/DGSPF, de fecha 12 de agosto de 2019 (fs. 33-36), y;

CONSIDERANDO:

I. ANTECEDENTES

1. Mediante Solicitud s/n, registrada con CUT: 00024970-2019, de fecha 27 de mayo de 2019 (fs. 01), la administrada, solicita a la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre la autorización con fines de investigación científica fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta de flora, como parte del proyecto *"Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de Ullucus tuberosus subespecie silvestre, considerando principios del biocomercio"*, a desarrollarse en el centro poblado de Huamantanga en el distrito de Huari, provincia de Huari, departamento de Ancash.
2. Mediante correo electrónico, de fecha 16 de julio de 2019 (fs. 30), se solicitó a la administrada aclarar si va hacer uso de acceso a los recursos genéticos en la investigación.
3. Mediante correo electrónico, de fecha 17 de julio de 2019 (fs. 30), la administrada aclara de que no hará uso del acceso al recurso genético, solo utilizará extracto etanólico de saponinas elaborado a partir de la especie a estudiar.



Figura 18. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).



II. MARCO LEGAL GENERAL

4. Constitución Política del Perú.
5. Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre y su modificatoria¹ y el Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado por Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI.
6. Decreto Legislativo N° 1246, mediante el cual se aprueba diversas medidas de simplificación administrativa.
7. Numeral 9 del ANEXO N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal.
8. Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, de fecha 01 de abril de 2016, mediante el cual se aprobó los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre".
9. Decreto Supremo N° 004-2019-JUS que aprueba el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General.

III. COMPETENCIA

10. El artículo 66° de la Constitución Política del Perú de 1993 establece que los recursos naturales, renovables y no renovables, son patrimonio de la Nación. El Estado es soberano en su aprovechamiento.
11. El artículo 9° de la Ley N° 26821, Ley Orgánica para el aprovechamiento sostenible de los Recursos Naturales, establece que el Estado promueve la investigación científica y tecnológica sobre la diversidad, calidad, composición, potencialidad y gestión de los recursos naturales. Promueve, asimismo, la información y el conocimiento de los recursos naturales. Para estos efectos, podrán otorgarse permisos para investigación en materia de recursos naturales incluso sobre recursos materia de aprovechamiento, siempre que no perturben el ejercicio de los derechos concedidos por los títulos anteriores.
12. El artículo 13° de la Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, creó el Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR, como organismo público técnico especializado, con personería jurídica de derecho público interno, como pliego presupuestal adscrito al Ministerio de Agricultura y Riego.
13. El artículo 137° de la precitada Ley, declara de interés nacional la investigación, el desarrollo tecnológico, la mejora del conocimiento y el



¹ Decreto Legislativo N° 1220, Decreto Legislativo que establece medidas para la lucha contra la tala ilegal, publicado en el Diario Oficial El Peruano el 24 de setiembre de 2015.

Figura 19. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).



monitoreo del estado de conservación del patrimonio forestal y de fauna silvestre de la Nación.

14. El Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, que aprueba el Reglamento para la Gestión Forestal, regula el procedimiento de otorgamiento de autorizaciones con fines de investigación científica de flora silvestre, estableciendo para tal efecto los requisitos y consideraciones para su otorgamiento, de acuerdo con los lineamientos aprobados por el SERFOR, así como las obligaciones materia de cumplimiento por parte del titular de la autorización.
15. El artículo 140° de la Ley N° 29763, Ley Forestal y de Fauna Silvestre, señala que el SERFOR otorga autorización para extracción de recursos forestales y de fauna silvestre con fines de investigación científica cuando se trata de especies categorizadas como amenazadas.
16. El artículo 154° del Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, regula el procedimiento de otorgamiento de autorizaciones con fines de investigación científica de flora silvestre, estableciendo para tal efecto, los requisitos y consideraciones para su otorgamiento, de acuerdo con los lineamientos aprobados por el SERFOR, así como las obligaciones materia de cumplimiento por parte del titular de la autorización, salvaguardando los derechos del país respecto de su patrimonio genético nativo.
17. El literal g) del artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones – ROF del SERFOR, señala entre otros, que la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre, tiene la función de otorgar permisos de investigación o de difusión cultural con o sin colecta de flora y fauna silvestre.



IV. REQUISITOS ESTABLECIDOS PARA LA TRAMITACIÓN y OTORGAMIENTO DE LA AUTORIZACIÓN

18. El numeral 9 del ANEXO N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal, establece los requisitos² para la autorización con fines de investigación de flora y fauna, con o sin contrato de acceso a recursos genéticos.

² El numeral 9 del ANEXO N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal, establece los requisitos para la autorización con fines de investigación de flora, con o sin contrato de acceso a recursos genéticos, conforme la siguiente documentación:

- a. Solicitudes con carácter de declaración jurada dirigidas a la autoridad competente, según formato, que contenga hoja de vida del investigador principal, relación de investigadores y el Plan de Investigación.
- b. Carta de presentación de los investigadores participantes expedida por la institución científica de procedencia.
- c. Documento que acredite el consentimiento informado previo, expedido por la respectiva organización comunal representativa, de corresponder.
- d. Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan a los investigadores nacionales.

Figura 20. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).



19. El numeral 7.2.1 de los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre", aprobado mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, establece que, a efectos de otorgar la autorización, el solicitante deba cumplir con las condiciones mínimas y los requisitos previstos, tomando en cuenta los registros de información disponibles al interior del Estado así como la información de fuentes oficiales o referencias indicadas.

En ese contexto, para la evaluación del presente procedimiento de Autorización, se ha considerado las disposiciones contenidas la normativa vigente para tal fin.

V. SOBRE LA EVALUACIÓN DEL EXPEDIENTE

20. El Informe Técnico N° 0633-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS/DGSPF, de fecha 12 de agosto de 2019 (fs. 33-36), emitido por la Dirección de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal, concluye entre otros que, la solicitud presentada cumple con los requisitos exigidos en el numeral 9 del Anexo N° 1 del Reglamento para la Gestión Forestal y con los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre", aprobado mediante Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE; recomendándose la aprobación de la solicitud de Autorización con fines de investigación científica de flora silvestre, fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta, y sin acceso a los recursos genéticos, con fines de realizar la extracción etanólica del tallo, respecto al proyecto "Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre, considerando principios del biocomercio", a desarrollarse en el centro poblado de Huamantanga en el distrito de Huarí, provincia de Huarí, departamento de Ancash.
21. Finalmente, el numeral 6.8 de los "Lineamientos para el otorgamiento de la autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre" Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE, establece que, toda persona natural o jurídica que cuente con una autorización con fines de investigación científica de flora y/o fauna silvestre deberá cumplir con las obligaciones, las mismas que, de obtenerse la autorización, deberán mencionarse en dicho Acto, conforme el artículo 158° del Reglamento para la Gestión Forestal.

VI. OBLIGACIONES DEL TITULAR DE LA AUTORIZACIÓN

22. Conforme los artículos: 158° del Reglamento para la Gestión Forestal, 138° del Reglamento para la Gestión de Fauna Silvestre y 100° del Reglamento para la Gestión Forestal y de Fauna Silvestre en Comunidades Nativas y Campesinas, aprobados mediante los Decretos Supremos N° 018, 019 y 021-



Figura 21. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).



2015-MINAGRI, respectivamente, el administrado se encuentra sujeto al cumplimiento de las obligaciones contenidas en dicha normatividad.

De conformidad con la Ley Forestal y de Fauna Silvestre, aprobada por Ley N° 29763; el Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI, El Decreto Supremo N° 004-2019-JUS que aprueba el Texto Único Ordenado de la Ley N° 27444, Ley del Procedimiento Administrativo General, el literal g) del Artículo 53° del Reglamento de Organización y Funciones aprobado por Decreto Supremo N° 007-2013-MINAGRI y la Resolución de Dirección Ejecutiva N° 060-2016-SERFOR/DE.

SE RESUELVE:

Artículo 1.- OTORGAR la Autorización con fines de investigación de flora silvestre fuera de Áreas Naturales Protegidas, con colecta, y sin acceso a los recursos genéticos, con fines de realizar la extracción etanólica del tallo, a la señora **IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS** identificada con DNI N° 72435168, correspondiéndole el Código de Autorización N° **AUT-IFL-2019-036**, por el periodo de once (11) meses, en virtud de las consideraciones expuestas en la presente resolución.



Artículo 2.- La señora **IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS** deberá realizar la investigación científica de flora silvestre, con colecta y sin acceso a los recursos genéticos, como parte del proyecto "*Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de Ullucus tuberosus subespecie silvestre, considerando principios del biocomercio*", a desarrollarse en el centro poblado de Huamantanga en el distrito de Huari, provincia de Huari, departamento de Ancash, fuera de Áreas Naturales Protegidas, ubicado en las coordenadas UTM: 261142.16; 8971979.10; zona 18L.

Artículo 3º.- Autorizar la participación de los investigadores propuestos por la señora **IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS**, conforme el contenido del **Cuadro N° 01** del **Anexo 1** de la presente resolución.

Artículo 4º. - La presente autorización comprende el cumplimiento de lo señalado en el Plan de Investigación propuesto por la administrada, así como la colecta de muestras biológicas de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre, en los punto de muestreo, con la finalidad de realizar la extracción etanólica del tallo. La colecta consistirá en obtener cinco (05) kilogramos de tallos y hojas. Como parte del proyecto "*Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de Ullucus tuberosus subespecie silvestre, considerando principios del biocomercio*", por el periodo de once (11) meses, contado a partir del día siguiente hábil de la notificación de la presente Autorización.

Artículo 5º.- De acuerdo con las consideraciones expuestas en la presente resolución la señora **IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS** tiene las siguientes obligaciones:

Figura 22. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).



- a) Contar con la autorización expresa de la comunidad, mediante acta de asamblea comunal, en caso requiera realizar la investigación científica dentro de tierras de comunidades campesinas o comunidades nativas. En caso requiera el ingreso a predios privados, necesita el consentimiento escrito del propietario.
- b) No extraer especímenes, ni muestras biológicas de flora silvestre no autorizadas; no ceder los mismos a terceras personas, ni utilizarlos para fines distintos a lo autorizado.
- c) Depositar el material colectado de flora silvestre en una institución científica nacional depositaria de material biológico, así como, entregar al SERFOR la constancia de dicho depósito. En casos debidamente justificados, y siempre que el material colectado no constituya holotipos ni ejemplares únicos, el depósito se podrá realizar en una institución distinta a la mencionada; para ello se requiere la autorización del SERFOR.
- d) Entregar a la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR, una (01) copia del Informe Final (incluyendo versión digital) como resultado de la autorización otorgada, copias del material fotográfico y/o slides que puedan ser utilizadas para difusión. El Informe Final (al término del estudio) deberá contener una lista taxonómica de las especies de flora colectadas, bajo la presente autorización, en formato MS Excel. Esta lista deberá contar con sus respectivas coordenadas en formato UTM (Datum WGS84), incluyendo la zona (17, 18 ó 19). El formato de Informe Final que debe ser usado se encuentra en el **Anexo 2** de la presente resolución.
- e) Sólo en el caso que por razones científicas acotadas se requiera enviar al extranjero parte del material colectado, el interesado deberá gestionar el correspondiente Permiso de Exportación ante la Dirección General de Gestión Sostenible del Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre del SERFOR, así como pasar el control respectivo. Los ejemplares únicos de los grupos taxonómicos colectados y holotipos sólo podrán ser exportados en calidad de préstamo.
- f) El cumplimiento de lo señalado en el literal c) y d) no deberá ser mayor a los seis (06) meses al vencimiento de la presente autorización.

Artículo 6°.- La administrada se compromete a:

- a) Comunicar a la Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre de Ancash, el inicio de los estudios de campo con la debida anticipación. Asimismo, el personal de dicha ATFFS, podrán acompañarlos durante la toma de datos o verificaciones en caso lo considere necesario, para lo cual los investigadores deberán brindar las facilidades del caso.
- b) Solicitar anticipadamente a la DGGSPFFS del SERFOR y dentro del plazo de vigencia de la resolución, cualquier cambio en las características de la investigación con fines científicos aprobada, que demanden la actualización de la presente resolución.
- c) Indicar el número de la Resolución en las publicaciones generadas a partir de la autorización concedida.

Artículo 7°.- La administrada del mencionado estudio deberá implementar todas las medidas de seguridad y eliminación de impactos que se puedan producir por las

Figura 23. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).



CERTIFICO

Que la presente Fotocopia es autentica y exactamente igual al documento original que he tenido a la vista y con el cual ha sido confrontada.



Lima, 14 AGO. 2019
IRMA IRAIDA BRICENO SANCHEZ
FEDATARIA
RDE N° 183-2018-MINAGRI-SERFOR-DE

actividades propias de las actividades de las fases de campo, como toma de datos, tratamiento y transporte de muestras, transporte de equipos, personal, etc.

Artículo 8.- La contravención a las obligaciones y/o condiciones establecidas en la presente resolución conllevará a la comisión de la infracción tipificada en el literal g) del artículo 207.2 del Reglamento para la Gestión Forestal, aprobado mediante Decreto Supremo N° 018-2015-MINAGRI.

Artículo 9°.- Notificar la presente resolución a la señora **IVETTE KATHERINE LEÓN ROJAS** y transcribirla a la Dirección General de Información y Ordenamiento Forestal y de Fauna Silvestre, a la Dirección de Control de la Gestión del Patrimonio Forestal y a la Administración Técnica Forestal y de Fauna Silvestre de Ancash, para su conocimiento y fines pertinentes.

Artículo 10°.- Disponer la publicación de la presente Resolución en el Portal Web del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre: www.serfor.gob.pe.

Regístrese y Comuníquese



[Firma]

Miriam Mercedes Cerdán Quiliano
Directora General
Dirección General de Gestión Sostenible del
Patrimonio Forestal y de Fauna Silvestre
Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre - SERFOR



ANEXO 1

CUADRO N° 1.- RELACIÓN DE INVESTIGADORES QUE PARTICIPARÁN DEL PROYECTO

Nombres y Apellidos	Participación en el Proyecto	Pasaporte/DNI
Ivette Katherine León Rojas	Investigadora principal	72435168
Yuly Yesenia Cotrina Ordoñez	Co-investigadora	47951186
Paul Ivan Gutiérrez Elescano	Co-investigador	07506217
Carlos Santos Bravo Ccatamayo	Co-investigador	42718520



Figura 24. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).



ANEXO 2



**FORMATO DE INFORME DE INVESTIGACIÓN
(PARCIAL o FINAL)**

Una vez culminada la investigación autorizada, la investigadora responsable deberá revisar el cumplimiento de los compromisos asumidos, teniendo en cuenta lo siguiente:

- 1) Entregar a la DGGSPFFS del SERFOR una (01) copia del informe parcial o final en idioma español, como resultado de la autorización otorgada, en formato impreso y soporte digital (CD), para ello adjunto el formato de informe a presentar:

- | | |
|----|--|
| a. | Título del Proyecto. |
| b. | Área estudiada (indicando coordenadas geográficas para todas las zonas de colecta). |
| c. | Nº de Autorización. |
| d. | Autores. |
| e. | Institución. |
| f. | Resumen para ser publicado en la web del SERFOR (donde se deberá señalar los resultados y la relevancia de lo encontrado en forma sintetizada) |
| g. | Marco teórico. |
| h. | Material y Métodos. |
| i. | Resultados. |
| j. | Discusión. |
| k. | Conclusiones. |
| l. | Bibliografía. |
| m. | Anexos |

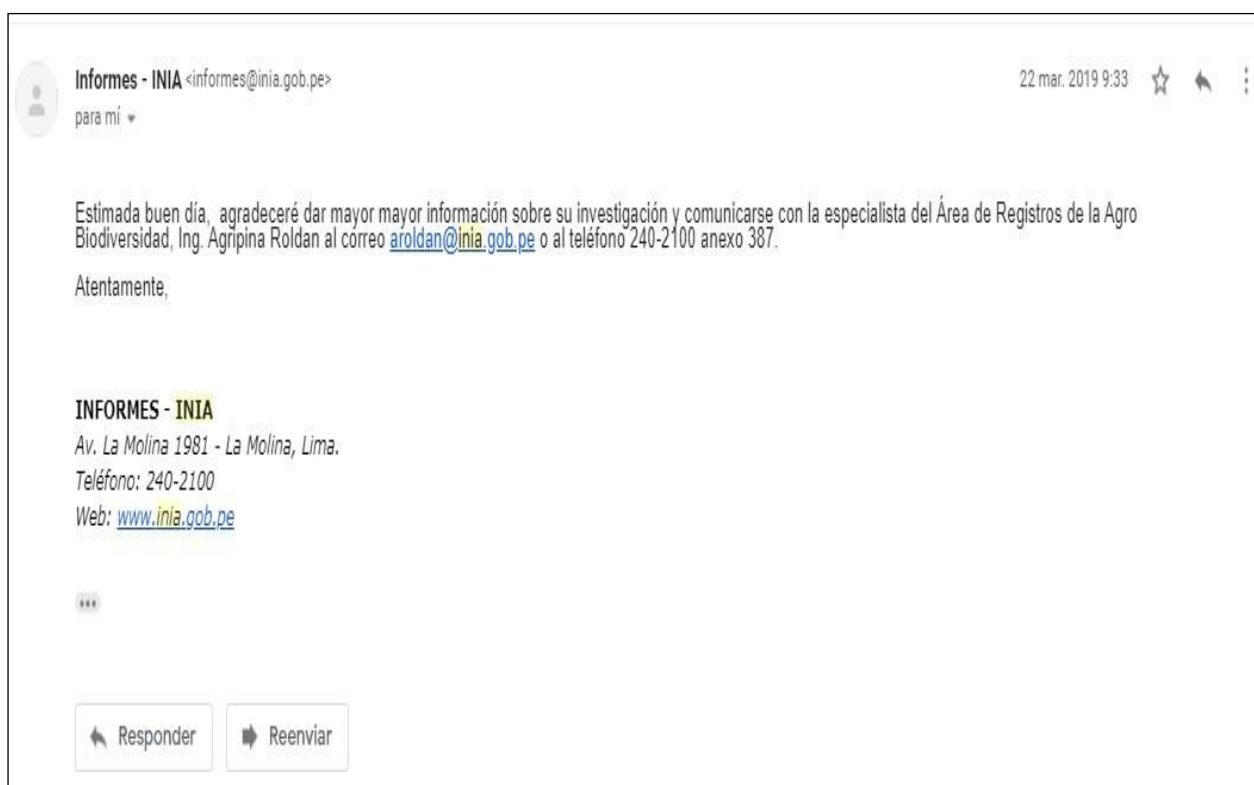
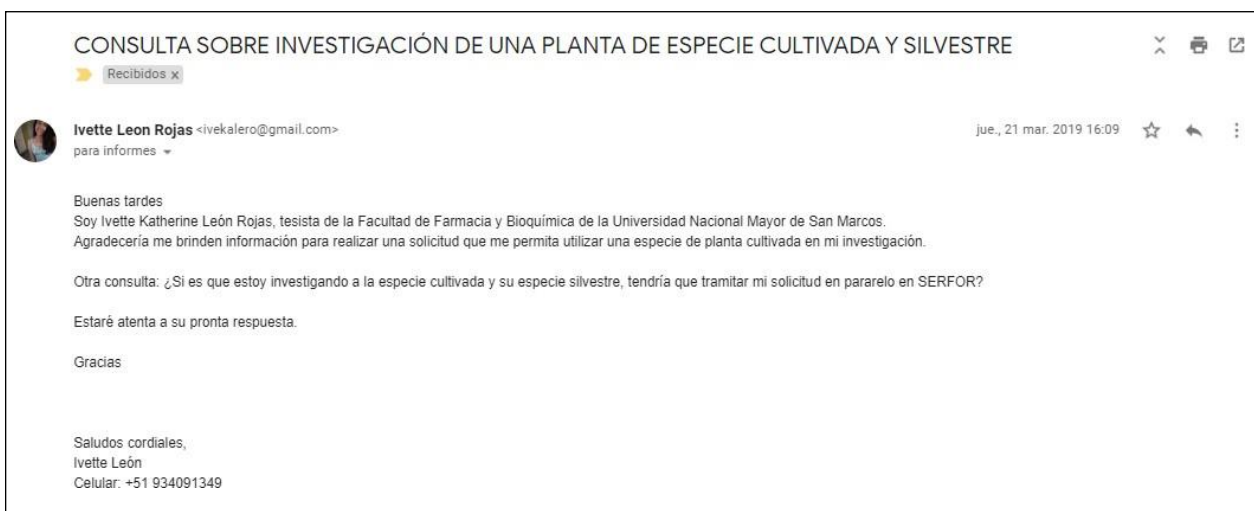
- 2) Entregar copias del material fotográfico y/o slides que puedan ser utilizadas para difusión institucional no comercial.
- 3) Entregar copia de la(s) publicación(es), producto de la investigación realizada en formato impreso y digital, o de lo contrario señalar que no cuenta con publicación alguna en la remisión de su carta.
- 4) Presentar la lista taxonómica de las especies de flora encontradas en las zonas evaluadas con las respectivas coordenadas formato UTM (Datum WGS84), incluyendo la zona (17, 18 ó 19). Dicha información deberá ser presentada en un cuadro en formato Excel.
- 5) Además, se deberá adjuntar copias de las constancias de depósito del material biológico y de ser el caso, copias de los permisos de exportación otorgados (para el caso de autorización con colecta).

Figura 25. Resolución N°382-2019-MINAGRI-SERFOR-DGGSPFFS (Continuación).

Anexo 15

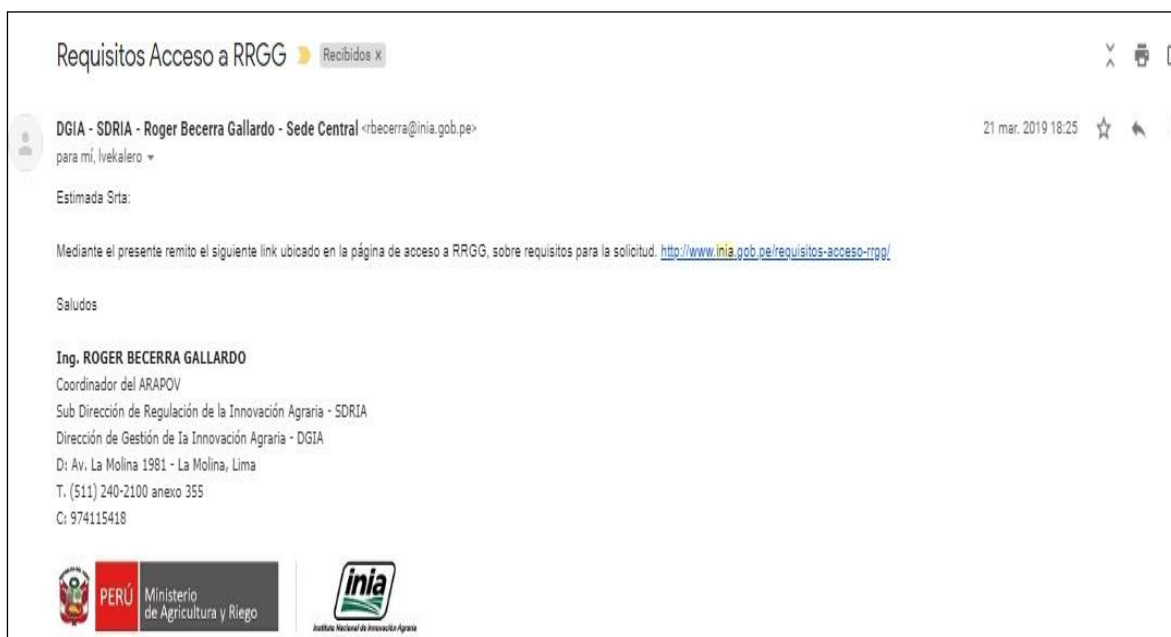
Procedimiento ante Instituto Nacional de Innovación Agraria – INIA

1.- Se realizó consulta vía e-mail (informes@inia.gob.pe)



2.- Se realizó una consulta vía telefónica a la central de INIA, para solicitar información correspondiente al permiso de investigación de la planta *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada. Para poder solicitar el permiso se comunicó que la planta debe ser oriunda del Perú y ser cultivada.

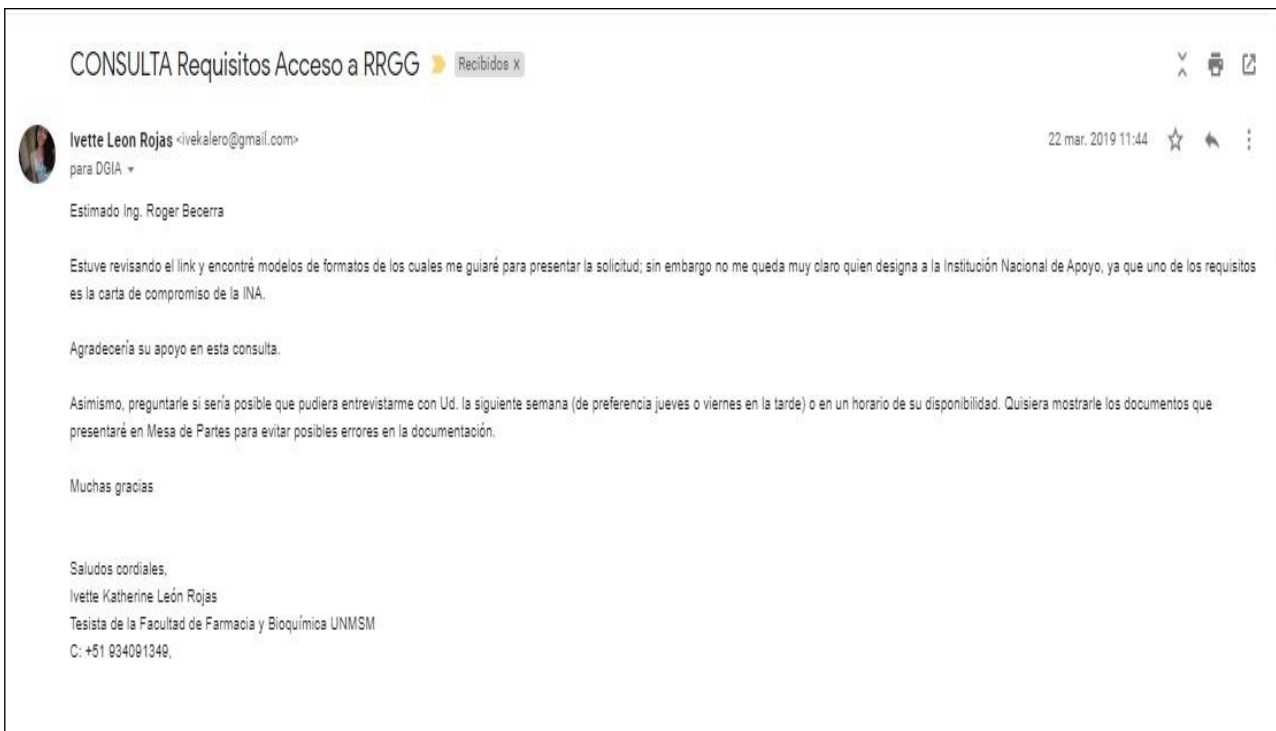
3.- INIA envió un correo con el link para observar los requisitos necesarios para presentar para la solicitud (<http://www.inia.gob.pe/requisitos-acceso-rrgg/>).



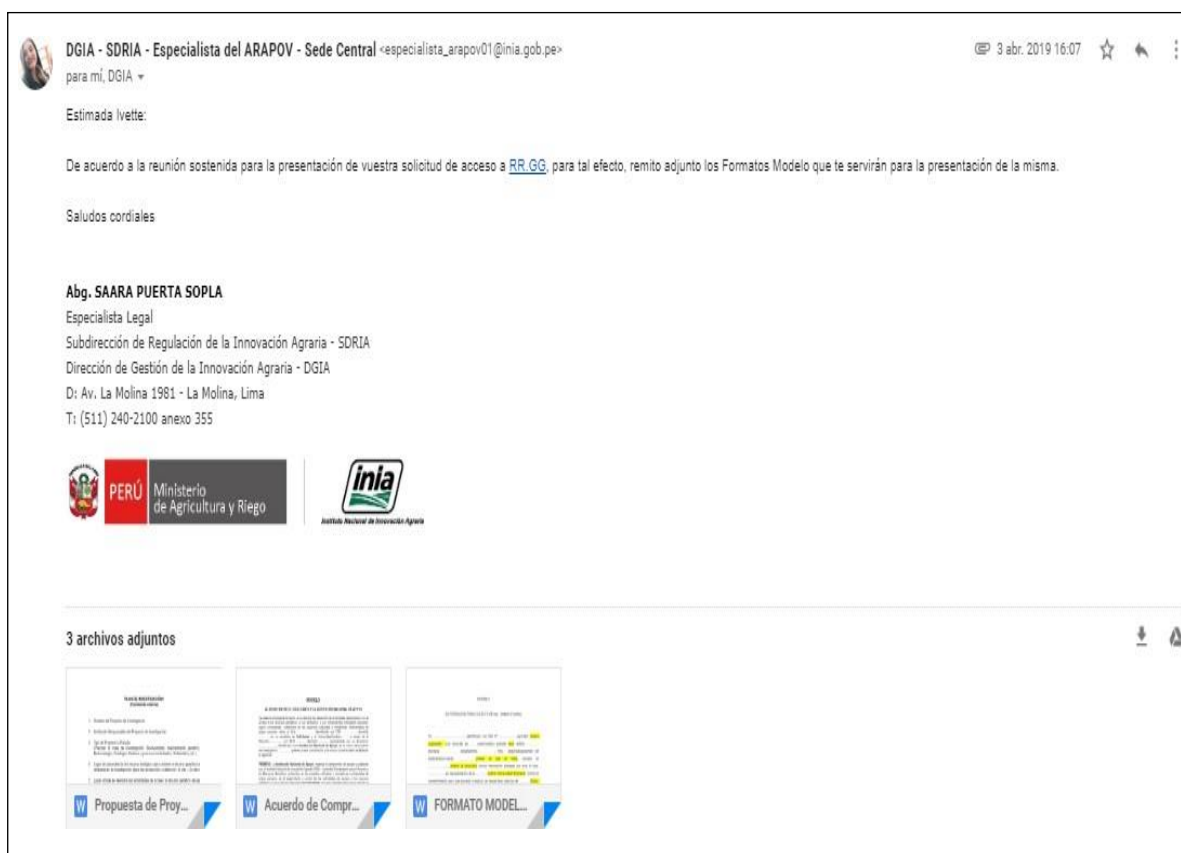
4.- Los requisitos se detallan en el link citado⁹⁷ (<http://www.inia.gob.pe/requisitos-acceso-rrgg/>)



5.- Se envió una consulta vía e-mail sobre los requisitos mencionados en la página.



6.- Se programó una entrevista para la exposición del proyecto en el cual se iba a utilizar la planta *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada como tema de investigación.



7.- Se informó a Escuela lo relacionado a los requisitos necesarios y se programó una entrevista con la Decana de la Facultad de Farmacia y Bioquímica para completar uno de los requisitos solicitados para el permiso.

PERMISOS REQUERIDOS CON FINES DE INVESTIGACIÓN EN MATERIA DE TESIS ANTE AUTORIDADES COMPETENTES

Recibidos X



Ivette Leon Rojas <ivekalero@gmail.com>
para vizaguirrep, yuly

4 abr. 2019 18:27 ☆ ↩ ⋮

Estimado Dr. Victor Izaguirre

El día de ayer conversé con Ud. sobre los permisos que mi compañera Yuly Cotrina y yo hemos necesitado solicitar para el desarrollo de nuestra tesis. En el siguiente párrafo exponemos la información que hemos revisado:

Cuando se utilice alguna planta cultivada y silvestre con fines de investigación se deberá solicitar un permiso a las Autoridades Competentes: (Esto se indica en el Artículo 15 del D.S. N° 003-2009-MINAM, el cual adjunto).

1. El Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA); para recursos genéticos, moléculas, combinación o mezcla de moléculas naturales, incluyendo extractos crudos y demás derivados contenidos en las especies cultivadas o domésticas continentales. Dicho contenido puede encontrarse en todo o parte del ejemplar.

En el artículo 5 del D.S. N° 003-2009-MINAM se detalla las exclusiones para solicitar el permiso:

Artículo 5.

- De las exclusiones. Se excluyen del ámbito del presente: reglamento:

- a) Los recursos genéticos humanos y sus productos derivados.
- b) El intercambio de recursos genéticos, sus productos derivados, los recursos biológicos que los contienen, o de los componentes intangibles asociados a éstos que realicen los pueblos indígenas y comunidades locales, entre sí y para su propio consumo, basadas en las prácticas tradicionales y usos del lugar en el territorio peruano.
- c) Las especies alimenticias y forrajes incluidos en el anexo I del Tratado Internacional de Recursos Fitogenéticos para la Alimentación y la Agricultura de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación FAO.
- d) El uso de recursos genéticos con fines de cultivo, dentro del territorio peruano, entendiéndose por cultivo el desarrollo y crecimiento de especies vegetales en condiciones de campo, como también bajo condiciones in vitro, hidropónicas, entre otras e) Las actividades que impliquen el aprovechamiento de recursos naturales no maderables, para producir productos naturales (nutracéuticos y alimentos funcionales)

2. Para el caso de una planta de especie silvestre en este mismo artículo se menciona otra Autoridad Competente; sin embargo, actualmente el Servicio Forestal y de Fauna Silvestre "SERFOR" específicamente se encarga de otorgar los permisos relacionados a especies silvestres.

En la Guía Práctica de Autorizaciones de Investigación Pg17 (Adjunta) se menciona lo siguiente:

¿Cuándo solicitar una autorización con fines de investigación científica directamente al SERFOR?

- La biosíntesis o la producción de compuestos de origen natural en el material genético (extracción de metabolitos, síntesis de ADN y producción de copias, etc.)

Como requisitos para el otorgamiento de estas autorizaciones de investigación cada Autoridad Competente se solicitan distintos documentos:

En el caso de SERFOR se solicita:

Documentos: (Adjunto word con formatos de los requisitos solicitados)

1. Solicitud
2. Hoja de vida del investigador principal (según formato)
3. Relación de investigadores participantes (según formato)
4. Plan de investigación (según formato)
5. Carta de presentación de todos los investigadores
6. Documento que acredite el acuerdo entre las instituciones que respaldan los investigadores nacionales y extranjeros (en caso la solicitud sea presentada por un investigador extranjero)
7. Consentimiento informado previo (de corresponder)

En el caso de INIA

En el siguiente link se puede observar los requisitos:

<http://www.inia.gob.pe/requisitos-acceso-rgg/>

Uno de los requisitos solicitados por INIA son: la carta de compromiso de la Institución Nacional de Apoyo (INA) y su respectivo acuerdo de compromiso. En nuestro caso la INA sería nuestra Facultad de Farmacia y Bioquímica. (Adjunto ambos formatos)

Con relación a nuestro proyecto de investigación titulado:

"Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de *Ullucus tuberosus*, considerando principios del biocomercio"


Nosotros nos entrevistamos con la Autoridad INIA, y luego de que evalúen nuestro plan de investigación, nos comunicaron que debíamos solicitar un permiso de investigación.

Quisieramos nos ayude con el requisito "carta de compromiso de la Institución Nacional de Apoyo (INA) y su respectivo acuerdo de compromiso".

Nos indicaron que debía ser firmado por la Decana. Ya que nos falta solo eso para completar nuestra solicitud.

Muchas Gracias

Estaremos atentas a su comentario.

 **Victor Izaguirre** <vizaguirrep@gmail.com>
para Luisa, decanofyb, Farmacia, carmen, Paul, mi, yuly

8 abr. 2019 14:53

Estimada Dra. Negrón,

Saludos cordiales. Reenvío mensaje de nuestras egresadas Ivette León y Yuly Y. Cotrina quienes se encuentran realizando su tesis utilizando una especie vegetal de nuestro país y requieren la gestionar la autorización del **INIA**.

- **Título del Proyecto:** "Evaluación de la seguridad y eficacia del champú formulado a base de tensioactivos naturales del extracto etanólico del tallo de *Ullucus tuberosus*, considerando principios del biocomercio"
- **Tesistas (Investigadores):** Ivette Leon Rojas y Yesenia Cotrina Ordoñez
- **Asesor:** Paul Iván Gutiérrez Elecano

Para obtener el permiso del **INIA**, nuestras egresadas necesitan los siguientes documentos:

- Carta de compromiso de la Institución Nacional de Apoyo (INA) = Facultad de Farmacia y Bioquímica - (Formato adjunto)
- Acuerdo de compromiso (entre la facultad y los tesistas) - (Formato adjunto). Implica la designación de un representante de la Facultad para hacer seguimiento al desarrollo de la investigación.

Nota: Se adjuntan normas y documentos oficiales relacionados con la solicitud de acceso para utilizar especies vegetales con fines de investigación.

Solicito disponer a quien corresponda se proceda a atender lo solicitado por nuestras egresadas.

De otra parte, considerando la naturaleza de los proyectos de investigación que se realizan en nuestra Facultad y las normas adjuntas, sugiero que se implemente el procedimiento correspondiente como parte de la documentación del SGC y a cargo de la Unidad de Investigación, como área responsable de la gestión de la investigación y del apoyo a los investigadores. Es probable que en el futuro este procedimiento tenga carácter de obligatorio debido a la necesidad de cumplir las normas vigentes orientadas a proteger los recursos naturales del país.

Nota: Quedo atento a sus indicaciones a fin de atender, a la brevedad posible, lo solicitado por nuestras egresadas.

Atentamente,

Victor Izaguirre Pasquel
Director

 **Luisa Negrón Ballarte** <luisanegronballarte@gmail.com>
para Victor, decanofyb, mi, yuly, Farmacia, carmen, Paul

13 abr. 2019 10:48

Doctor Izaguirre le comunico que estamos coordinando directamente con las tesistas para efecto de atender la solicitud de los documentos requeridos. Agradecemos su preocupación.

Saludos
Luisa Negrón Ballarte

 **Ivette Leon Rojas** <ivekalero@gmail.com>
para Luisa, yuly, vizaguirrep

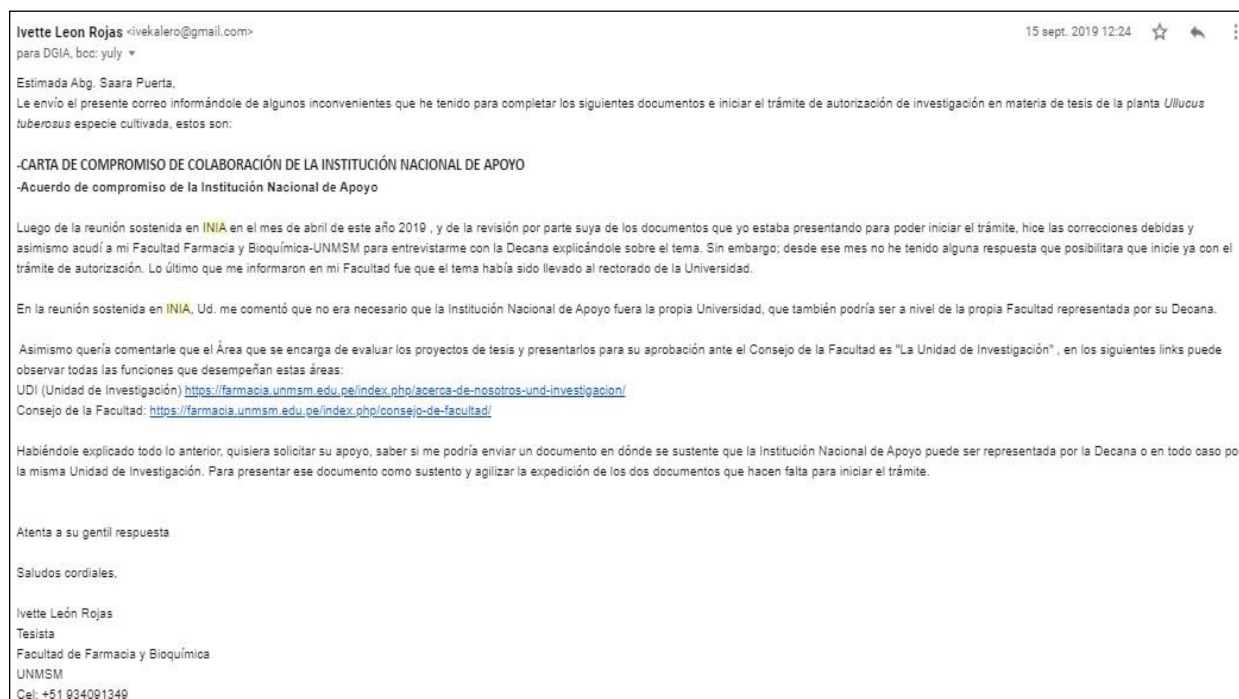
14 abr. 2019 10:26

Estimada Decana
Buenos días

De acuerdo a lo conversado el día viernes 12 de abril, le envío el número de contacto de la Abogada Saara Puerta Sopla. Especialista legal. Sub dirección de la Innovación Agraria - DGIA.
Teléfono de contacto : (511) 240-2100 anexo 355.

Saludos cordiales
Ivette León / Yuly Cotrina
Tesistas

8.- Se envió un correo a INIA explicándoles los inconvenientes para conseguir el requisito “Carta de Compromiso de la Institución Nacional de Apoyo”.



9.- INIA respondió a este correo con una posible solución para completar el requisito restante.



Anexo 16

Proceso de recolección de las subespecies de *Ullucus tuberosus*

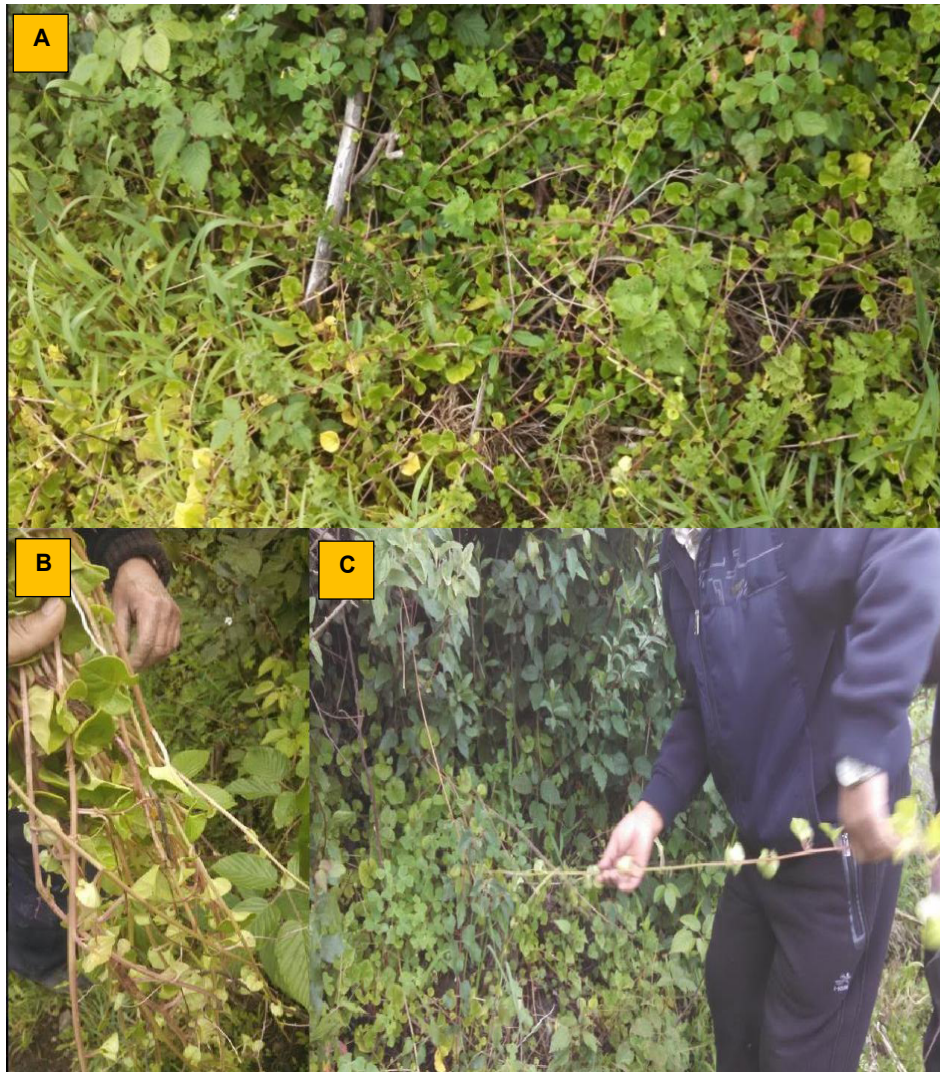


Figura 26 Zona de recolección Ullukullutu. A. Recolección de *Ullucus tuberosus* “Ullukullutu” procedente de Áncash. B Tallos Ullukullutu. C. Separación de tallos de Ullukullutu.



Figura 27. Recolección de *Ullucus tuberosus* “Ullukullutu” procedente de Áncash, en el Centro Poblado de Huamantanga.



Figura 28. Recolección de *Ullucus tuberosus* “Ullukullutu” procedente de Áncash.



Figura 29. Recolección de *Ullucus tuberosus* “olluco” procedente de Áncash



Figura 30. Recolección de *Ullucus tuberosus* “olluco” en baldes de plástico.

Anexo 17

Procesamiento de las muestras



Figura 31. Llegada de muestras de *Ullucus tuberosus* "Olluco" a Laboratorio DAFAF



Figura 32. Llegada de muestras de *Ullucus tuberosus* "Ullukullutu" a Laboratorio DAFAF



Figura 33. Lavado de muestras *Ullucus tuberosus* "Ullukullutu" (enredadera) con agua potable.



Figura 34. Sumergimiento de muestras *Ullucus tuberosus* en solución desinfectante al 0,5%. **A.** Lavado de hojas y tallos de Ullukullutu. **B.** Lavado de hojas y tallos de olluco.



Figura 35. Secado de muestras *Ullucus tuberosus* a temperatura ambiente por 30 minutos. **A.** Secado de tallos y hojas de Ullukullutu. **B.** Secado de tallos y hojas de olluco.



Figura 36. Cortado de tallos de las muestras vegetales frescas de *Ullucus tuberosus*.

A. Tallos de Ullukullutu. B. Tallos de olluco



Figura 37. Disposición de muestras de *Ullucus tuberosus* en papel Kraft para posteriormente ser colocadas a estufa. **A.** Tallos de Ullukullutu. **B.** Tallos de olluco.



Figura 38. Secado de muestras de *Ullucus tuberosus* en estufa a 40°C. **A.** Disposición de bandejas. **B.** Tallos de Ullukullutu. **C.** Tallos de ulluco



Figura 39. Seguimiento de pesos de Control *Ullucus tuberosus* "Ullukullutu" para determinar punto final de secado en estufa a 40°C



Figura 40. Muestras de *Ullucus tuberosus* "Ullukullutu" secas recién retiradas de estufa.

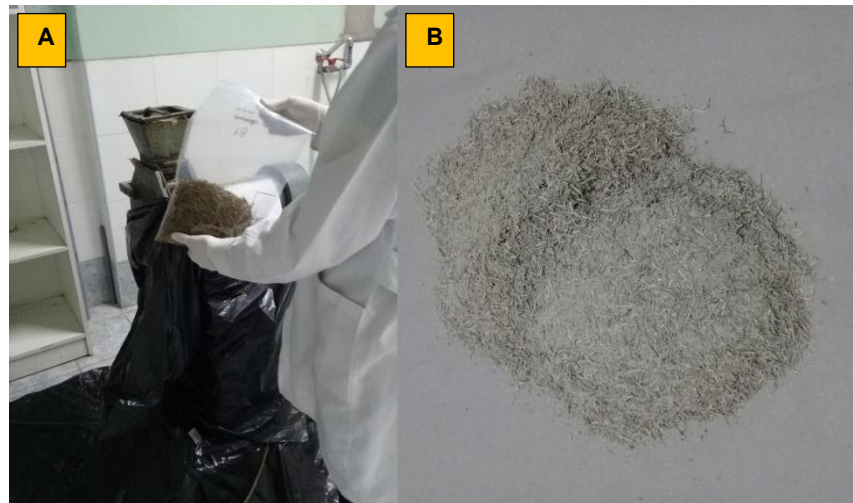


Figura 41. Molienda de muestras de *Ullucus tuberosus* "Ullukullutu". **A.** Molienda en molino de cuchillas. **B.** Muestra molida.

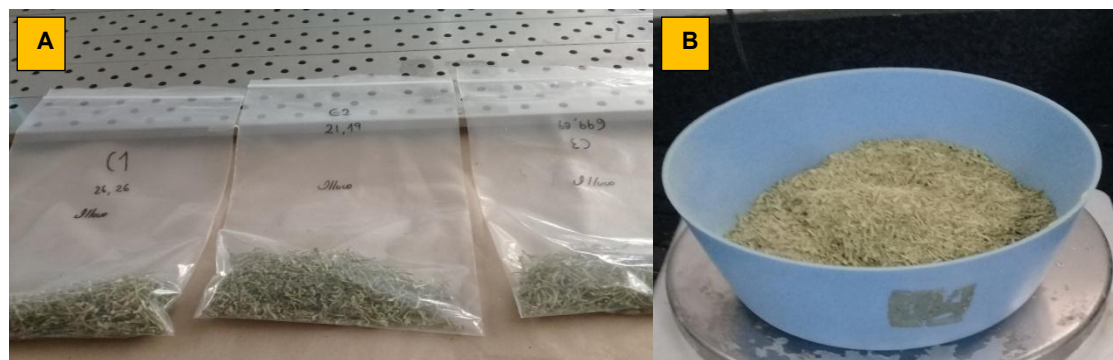


Figura 42. Muestras de *Ullucus tuberosus* "Olluco". **A.** Muestras secas. **B.** Muestra seca y molida.



Figura 43. Almacenamiento de muestras seca y molida de *Ullucus tuberosus* "Olluco" en desecador.

Anexo 18

Elaboración y tratamiento de extractos hidroalcohólicos de *Ullucus tuberosus*

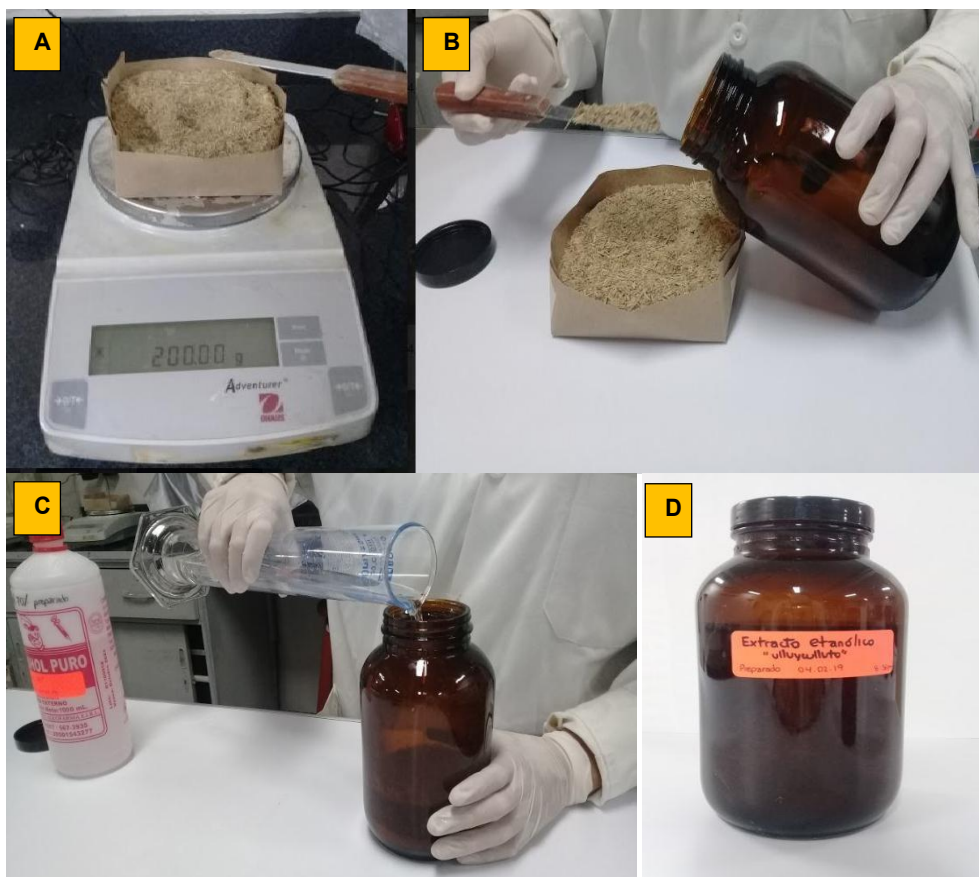


Figura 44. Preparación del extracto de tallos de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “Ullukullutu”. A Pesaje de la muestra. B Incorporación de la muestra molida al frasco ámbar. C Adición de la solución de alcohol 70%. D Extracto en envase ámbar.

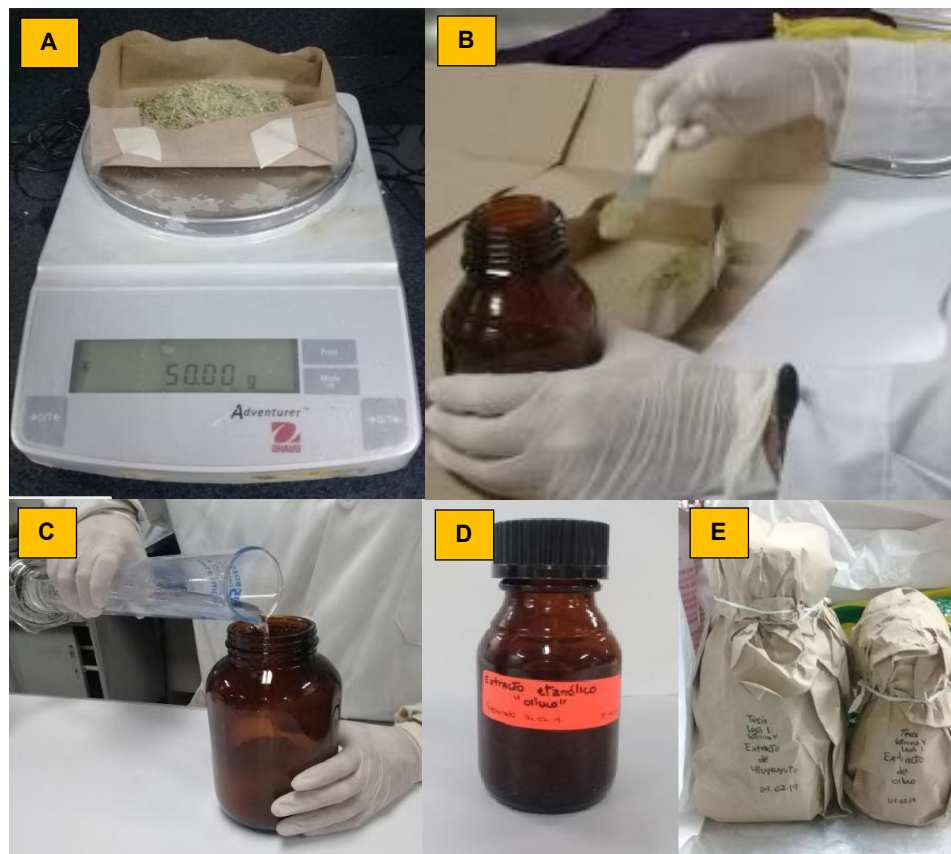


Figura 45. Preparación del extracto de tallos del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”. A Pesaje de la muestra. B Incorporación de la muestra molida al frasco ámbar. C Adición de la solución de alcohol 70%. D Extracto en envase ámbar. E Almacenamiento de los extractos a T ambiente.



Figura 46. Proceso de Filtración N°1 Filtración con yute. A. Filtración del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “Ullukullutu”. B. Recolección del filtrado.



Figura 47. Proceso de Filtración N°2 con papel de filtro A. Filtración del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “Olluco” B. Filtración del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “Ullukullutu”.



Figura 48. Proceso de Filtración N°3 con papel whatman A. Filtración del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “ullukullutu”. B. Filtración de extracto *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”.

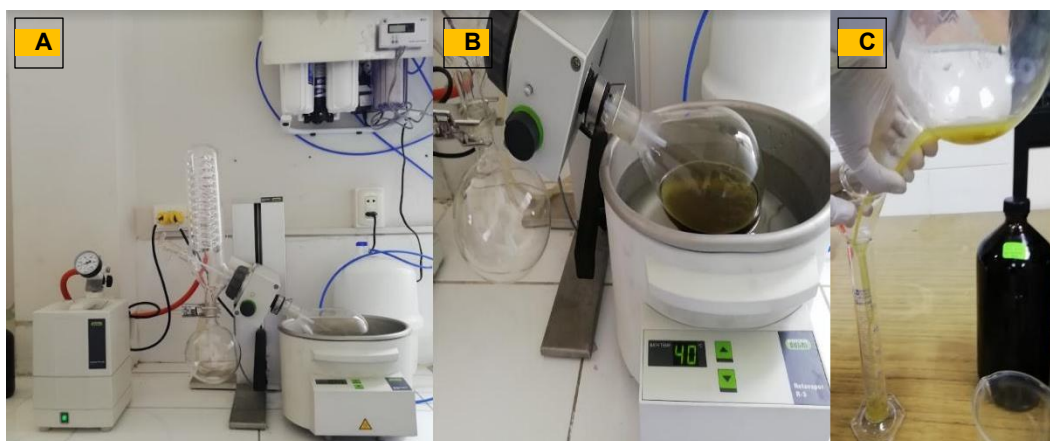


Figura 49. Concentración de extractos. A Equipo rotavapor B. Concentración. C. Verificación de volumen reducido.

Anexo 19

Operación de decantación

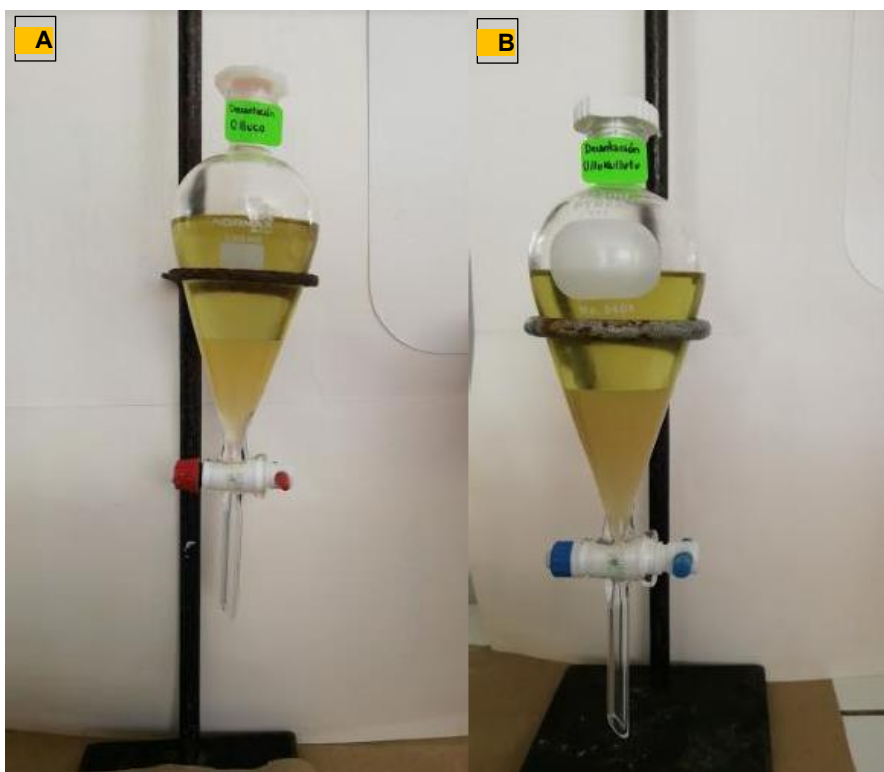


Figura 50. Decantación de extractos. A Decantación de extracto *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco” B. Decantación de extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “Ullukullutu”

Anexo 20

Operación de evaporación



Figura 51. Evaporación de las fases n-butanólicas de cada extracto en baño maría a 60°C.

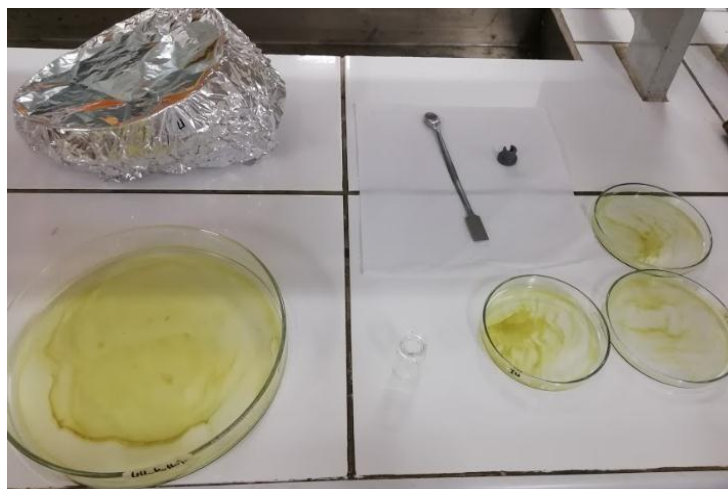


Figura 52. Placas Petri luego de la evaporación de la fase n-butanólica del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “ullukullutu”.



Figura 53. Saponinas crudas colocadas en viales para su almacenamiento a -20°C. “Ullukullutu”

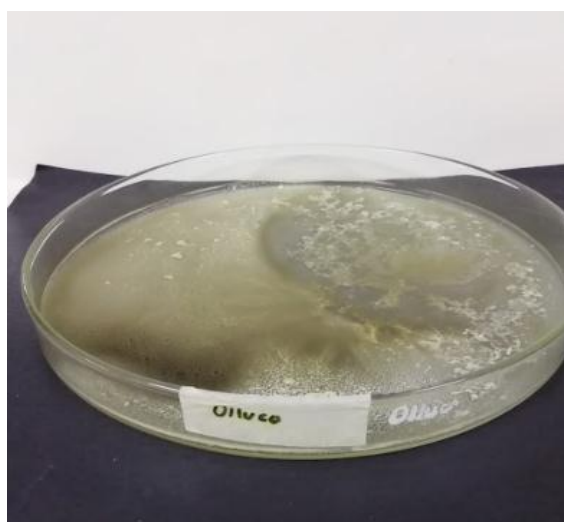


Figura 54. Placas Petri luego de la evaporación de la fase n-butanólica del extracto de *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”.



Figura 55. Saponinas crudas colocadas en viales para su almacenamiento a -20°C . "Olluco"



Figura 56. Viales con saponinas crudas almacenados a -20°C

Anexo 21

Evaluación de propiedades fisicoquímicas

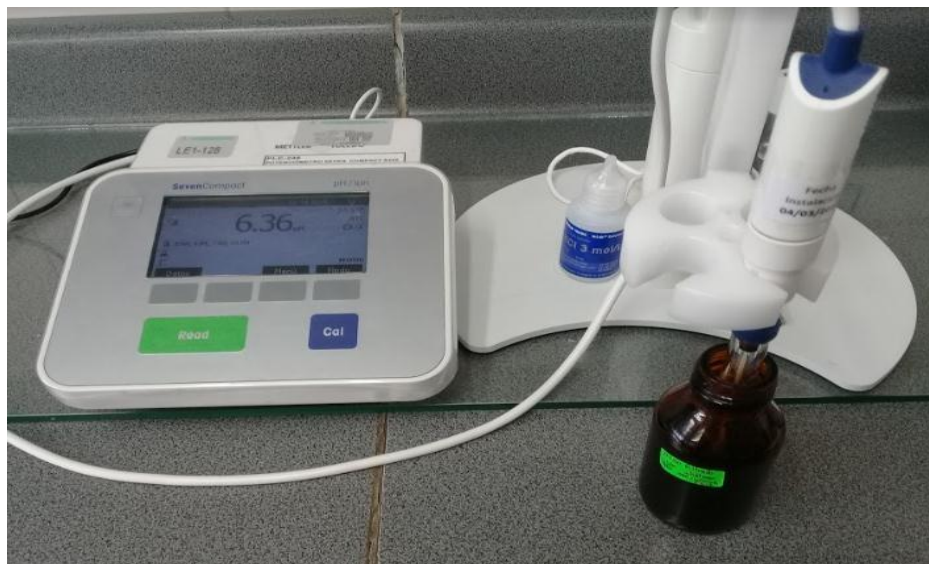


Figura 57. Medición de pH del extracto hidroalcohólico de *Ullucus tuberosus* subespecie cultivada “olluco”.



Figura 58. Medición de pH del extracto hidroalcohólico de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “ullukullutu”.

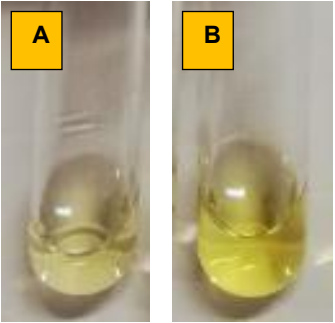
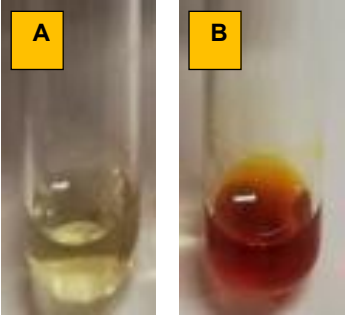
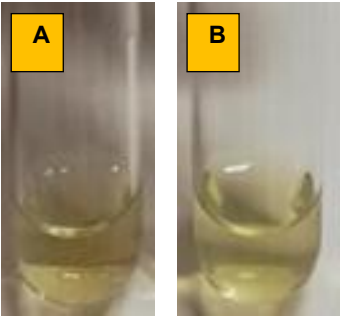
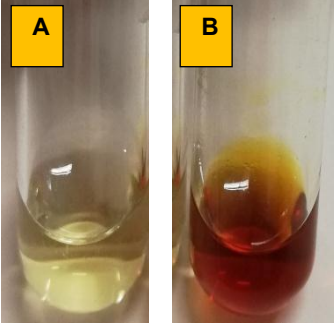
Medición de densidad de extractos

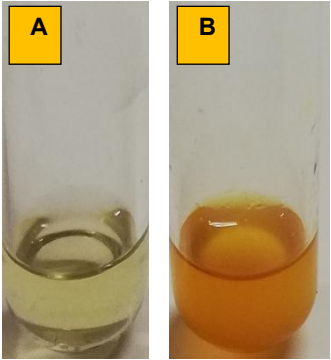
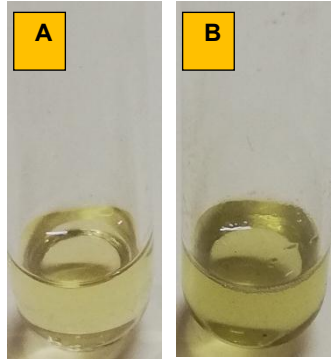
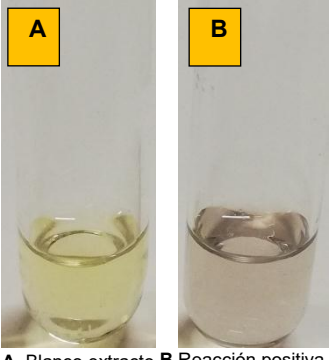
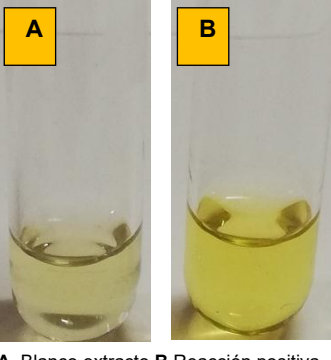


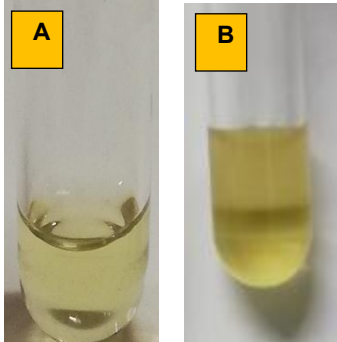
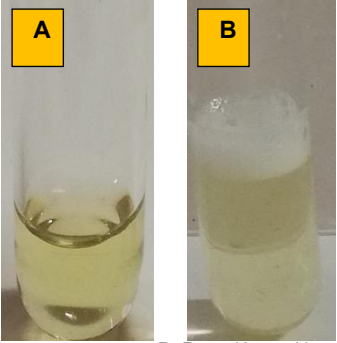
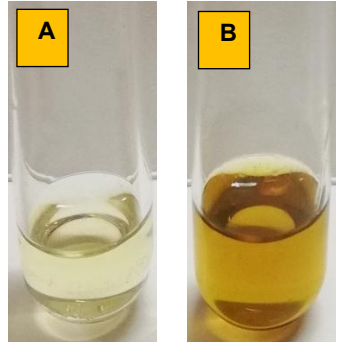
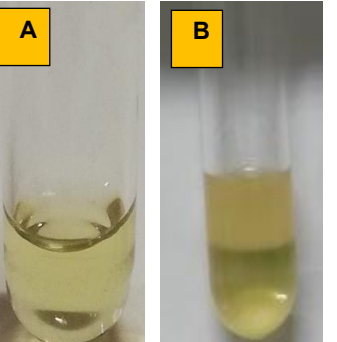
Figura 59. Medición de densidad de los extractos hidroalcohólico de *Ullucus tuberosus* subespecie silvestre “Ullukullutu” y subespecie cultivada “olluco”. **A.** Densímetro, **B.** Medición de densidad de extracto.

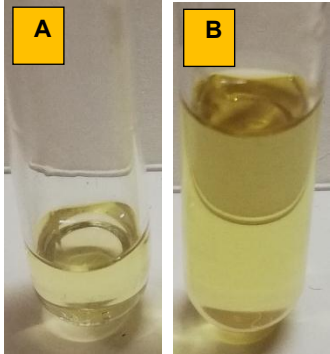
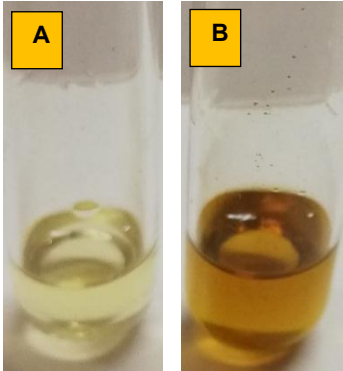
Anexo 22

Marcha fitoquímica del extracto de Ullukullutu

METABOLITO	REACTIVO	RESULTADO	
ANTOCIANINA	Prueba cualitativa	++	 <p>A. Blanco extracto B. Reacción positiva (Coloración amarilla)</p>
ALCALOIDE	Dragendorff	+	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (Coloración roja)</p>
	Mayer	+	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (precipitado – ligera turbidez)</p>
	Wagner	+	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (coloración café rojiza)</p>

LACTONAS	Baljet	+++	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (Coloración amarillo - anaranjado intenso)</p>
FLAVONOIDES	Shinoda	-	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Falso negativo</p>
AMINOÁCIDOS	Ninhidrina	+	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (Coloración lila tenue)</p>
CARDENÓLIDOS	Kedde	++	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (Coloración amarilla)</p>

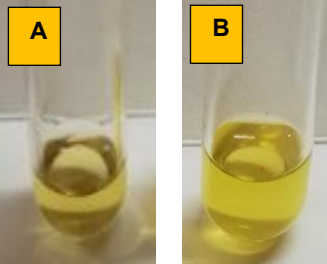
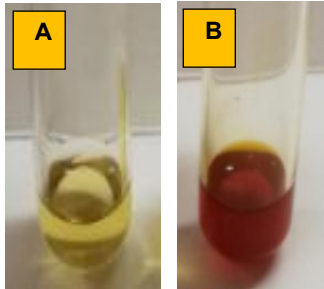
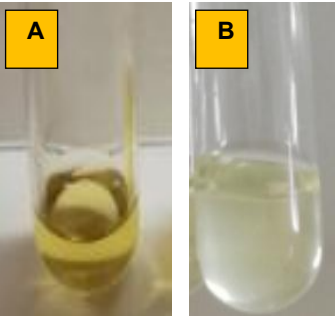
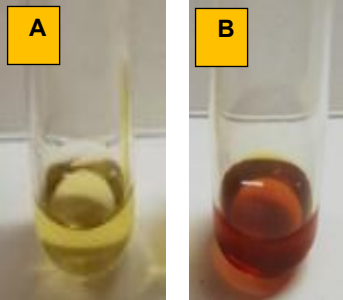
ESTEROIDES	Liebermann Burchard	+	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (liger. Colorac. Rosada en la fase superior)</p>
SAPONINAS	Espuma	+	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (formación de espuma)</p>
TANINOS	Cloruro férrico	++	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (Coloración verde oscura)</p>
TRITERPENOS	Liebermann- Burchard	++	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (lig. Colorac. Rosada en fase superior)</p>

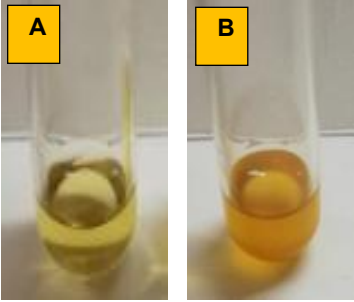
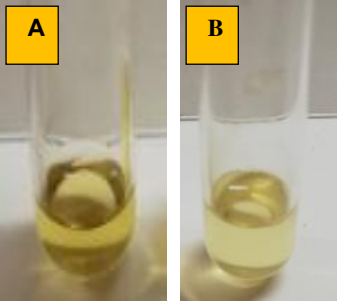
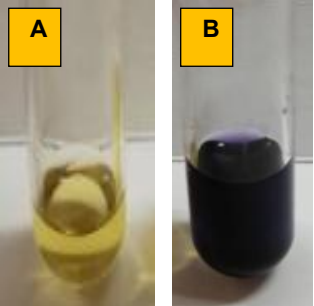
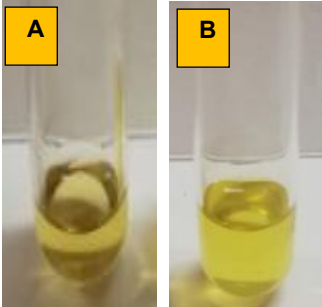
AZÚCARES REDUCTORES	Fehling	-	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción negativa (ausencia de precipitado rojo)</p>
FENOLES	Cloruro férrico	++	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva (coloración verde oscura)</p>

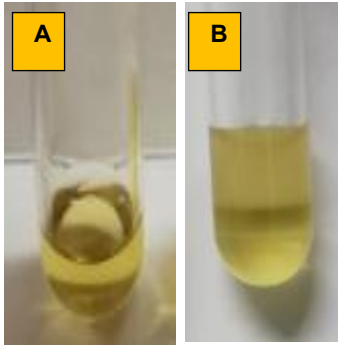
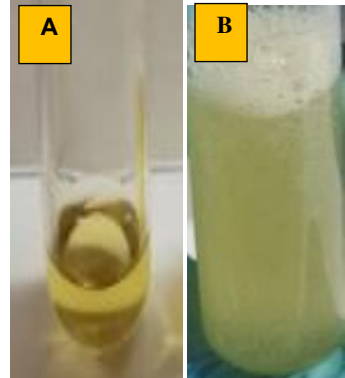
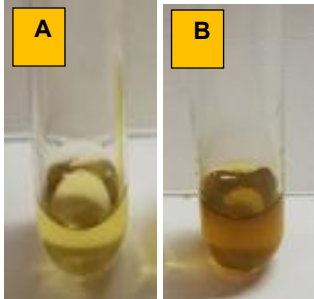
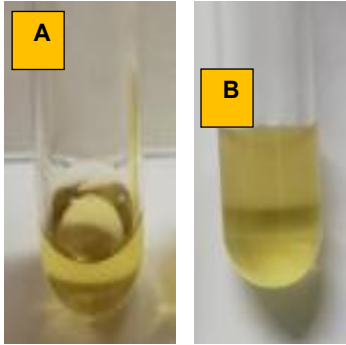
Leyenda. “-”: reacción negativa, “+”: reacción positiva leve, “++”: reacción positiva media, “+++”: reacción positiva intensa.

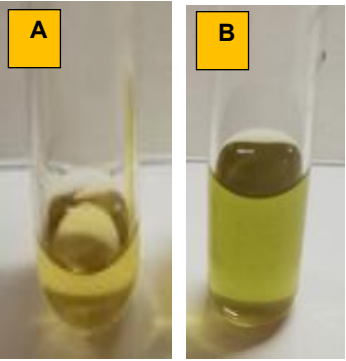
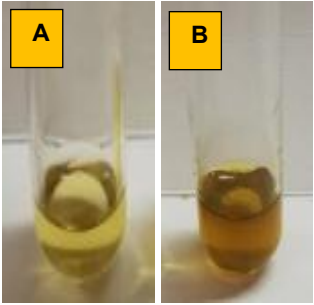
Anexo 23

Marcha fitoquímica del extracto de Olluco

METABOLITO	REACTIVO	RESULTADO	
ANTOCIANINA	Prueba cualitativa	+	 <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva (Coloración amarilla)</p>
ALCALOIDES	Dragendorff	+	 <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva (Coloración roja)</p>
	Mayer	++	 <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva (pp. Blanco amarillento)</p>
	Wagner	+	 <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva (Coloración café rojizo)</p>

LACTONAS	Baljet	++	 <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva (Coloración naranja)</p>
FLAVONOIDES	Shinoda	-	 <p>A. Blanco extracto olluco B. Falso negativo olluco</p>
AMINOÁCIDOS	Ninhidrina	+++	 <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva: Coloración azul a violeta púrpura.</p>
CARDENÓLIDOS	Kedde	+	 <p>A. Blanco extracto olluco. B. Reacción positiva: Coloración.</p>

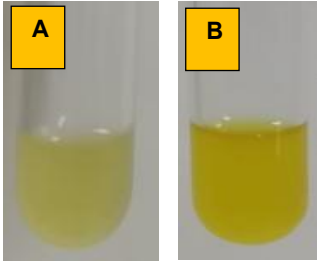
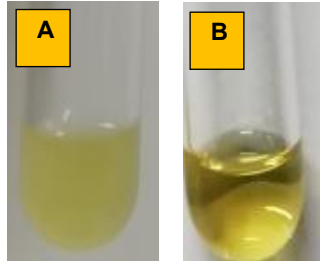
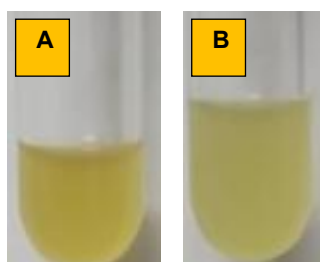
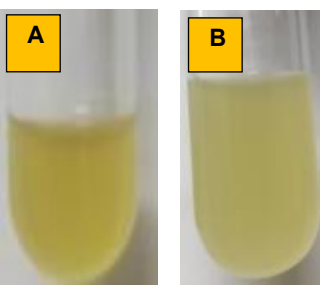
ESTEROIDES	Liebermann Burchard	+	 <p>A. Blanco extracto olluco. B. Reacción positiva: coloración lig. Rosada en la fase superior.</p>
SAPONINAS	Espuma	++	 <p>A. Blanco extracto olluco. B. Reacción positiva: espuma.</p>
TANINOS	Cloruro férrico	++	 <p>A. Blanco extracto olluco. B. Reacción positiva: verde oscura</p>
TRITERPENOS	Liebermann-Burchard	+	 <p>A. Blanco extracto olluco. B. Reacción positiva: coloración lig. Rosada en la fase superior.</p>

AZÚCARES REDUCTORES	Fehling	-	 <p>A. Blanco extracto olluco.</p> <p>B. Reacción negativa.</p>
FENOLES	Cloruro férrico	++	 <p>A. Blanco extracto olluco.</p> <p>B. Reacción positiva: verde oscura</p>









Leyenda. “-”: reacción negativa, “+”: reacción positiva leve, “++”: reacción positiva media, “+++”: reacción positiva intensa.

Anexo 24

Pruebas de identificación de saponinas - Ullukullutu

METABOLITO	REACTIVO	CARACTERÍSTICAS SEGÚN LITERATURA	RESULTADO
SAPONINAS	Reactivo Noller	Específica para saponinas triterpénicas, presenta cambios de coloración en los siguientes 60 min.	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva: col. amarillo intenso</p>
	Reactivo Rosenthaler	Coloraciones amarillo rojizo	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva: coloración amarilla traslúcida</p>
	Reactivo tricloroacético	Coloración del naranja al rojo.	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva: coloración liger. Anaranjada opalescente</p>
	Reactivo vainillina HCl 1%	Coloraciones variables	 <p>A. Blanco extracto Ullukullutu B. Reacción positiva: sol. opalescente Liger. azulada</p>

Anexo 25
Pruebas de identificación de saponinas - Olluco

METABOLITO	REACTIVO	CARACTERÍSTICAS SEGÚN LITERATURA	RESULTADO
SAPONINAS	Reactivo Noller	Específica para saponinas triterpénicas, presenta cambios de coloración en los siguientes 60 min.	<div>   </div> <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva: coloración amarilla</p>
	Reactivo Rosenthaler	Coloraciones amarillo rojizo	<div>   </div> <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva: coloración amarilla traslúcida tenue</p>
	Reactivo tricloroacético	Coloración del naranja al rojo.	<div>   </div> <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva: coloración verde azulada opalescente</p>
	Reactivo vainillina HCl 1%	Coloraciones variables	<div>   </div> <p>A. Blanco extracto olluco B. Reacción positiva: coloración liger. Violácea en la parte superior.</p>

Anexo 26

Especificación del estándar escina para cuantificación de saponinas

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA
Website: www.sigmaaldrich.com
Email USA: techserv@sial.com
Outside USA: eurtechserv@sial.com

Product Specification

Product Name:
Escin - $\geq 95\%$, powder

Product Number: E1378
CAS Number: 6805-41-0
MDL: MFCD00076054

TEST	Specification
Appearance (Color)	White to Off-White
Appearance (Form)	Powder
Solubility (Color)	Colorless to Faint Yellow
Solubility (Turbidity)	Clear
50 mg/ml, MeOH	
Solvent Content (by GC)	$\leq 2.0 \%$
As Ethanol	
Solvent Content (by GC)	$\leq 0.3 \%$
As Methanol	
Recommended Retest Period	-----
2 years	
Purity (TLC)	$> 95 \%$
Water (by Karl Fischer)	$< 5.0 \%$
Purity (Titr. by NaOH) anhyd.	$> 95 \%$

Specification: PRD.1.ZQ5.10000033614

Figura 60. Ficha de especificaciones de estándar Escin. **Fuente:** https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/e1378?lang=en®ion=PE&gclid=Cj0KCQiA4sjyBRC5ARIsAEHsELHqhdYcFUT5E0o7DWQgXokuwBosi-8oRoAhG6JyOxpjCfcN8ipUZoUaArE2EALw_wcB

Anexo 27

Determinación del nivel de espuma

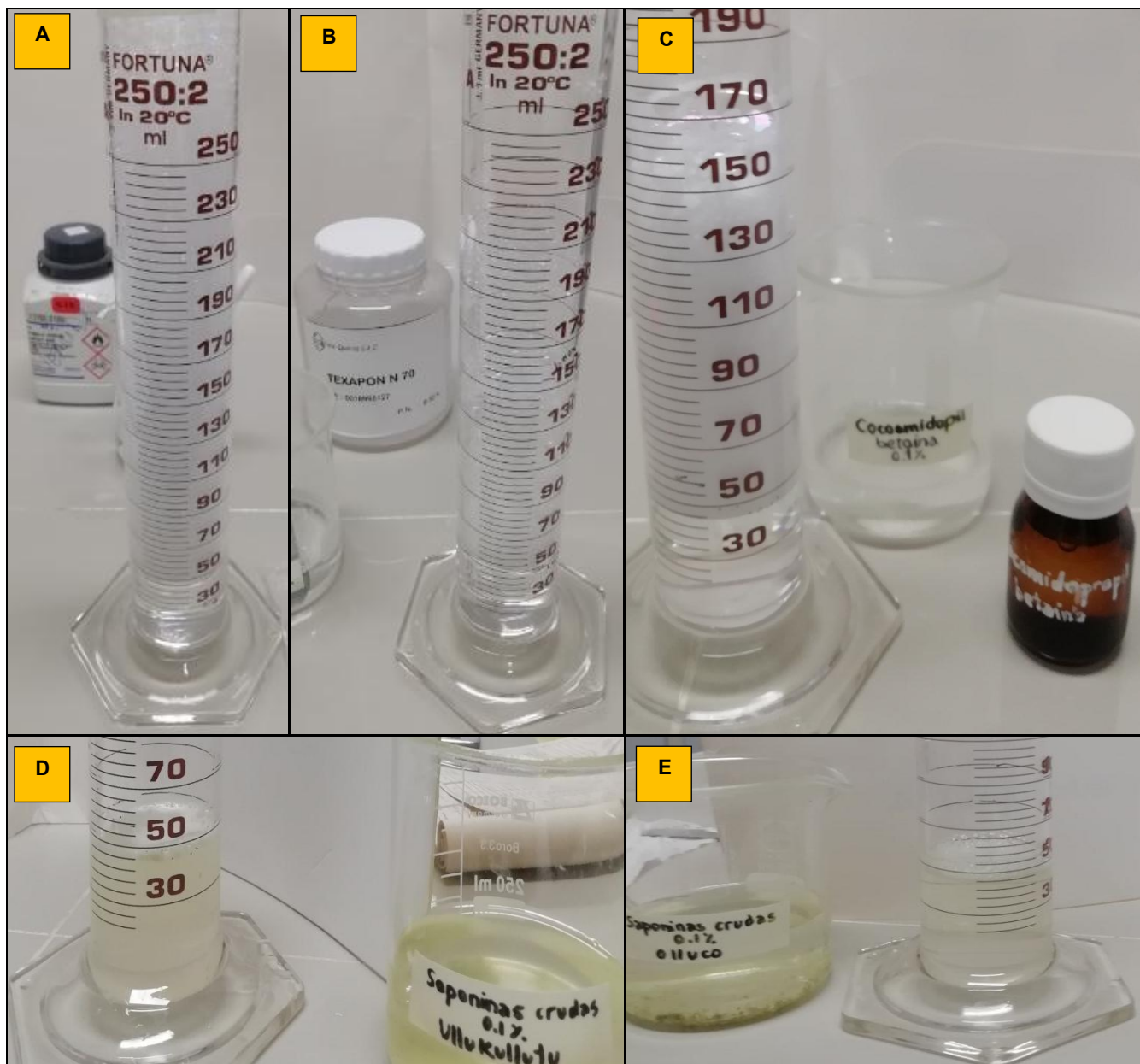
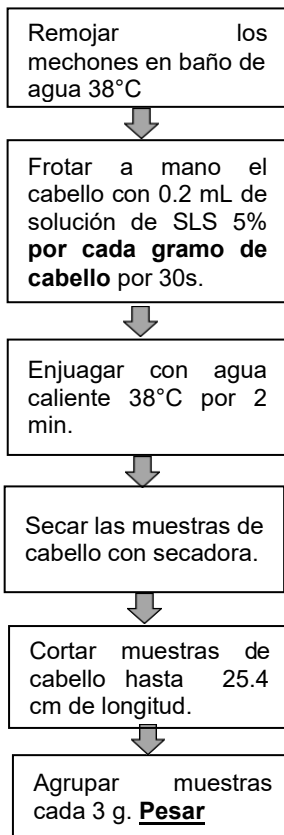


Figura 61. Prueba determinación de nivel de espuma de soluciones tensioactivas al 0.1%. **A.** SLS (dodecilsulfato sódico o laurilsulfato sódico), **B.** Texapon N70 (Lauril éter sulfato de sodio), **C.** Cocamidopropilbetina, **D.** Saponinas crudas de tallo de Ullukullutu y **E.** Saponinas crudas de tallo de Olluco.

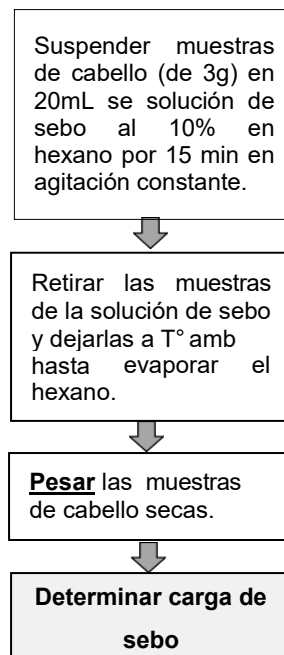
Anexo 28

Flujograma

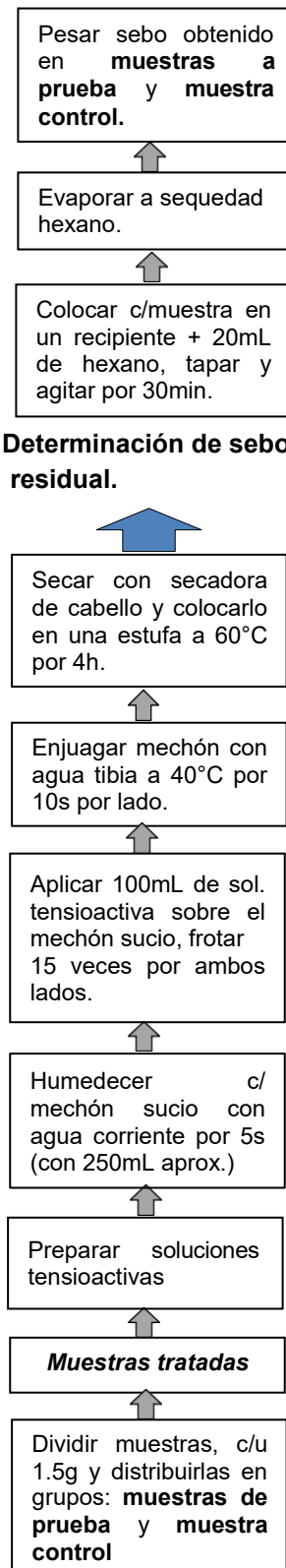
1. Prelavado muestras de cabello



2. Engrasado de muestras de cabello



4. Determinación de sebo residual.



3. Tratamiento de muestras con tensioactivos

5. Cálculo de Habilidad detergente (HD)

$$HD = 100 - (Tx100/C)$$

Donde:

T: peso del sebo en muestra de prueba

C: peso del sebo en

Tensioactivos:

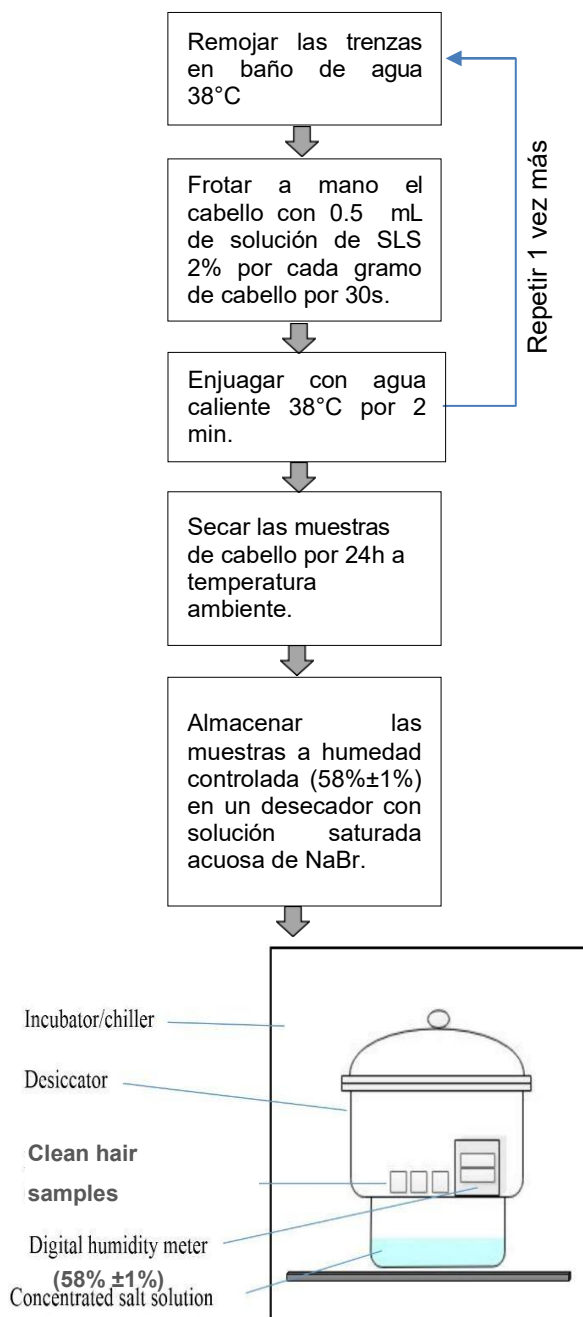
- SLS 0.5%
- Cocoglucoside 0.5%
- Saponinas crudas de Ullukullutu 0.5%
- Saponinas crudas de olluco 0.5%
- Extracto h. de olluco
- Extracto h. de ullukullutu

Figura 62. Procedimiento de determinación de habilidad detergente. Fuente: elaboración propia.

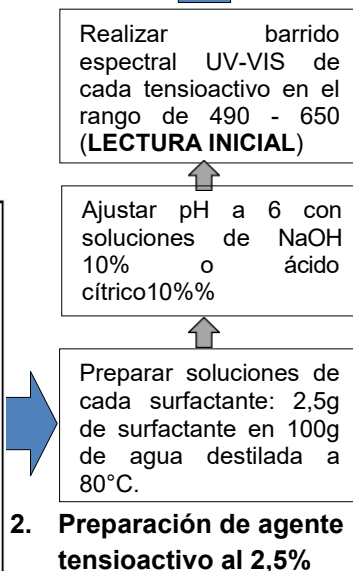
Anexo 29

Flujograma

1. Limpiar muestras de cabello



3. Contacto cabello - surfactante



2. Preparación de agente tensioactivo al 2,5%

1. SLS = Sodium dodecyl sulfate
2. SLES = Sodium lauryl ether sulfate
3. CAPB = Cocamidopropil betaine
4. GLUC = Coco glucoside
5. SAPON 1(U)
6. SAPON 2(O)

4. Comparación de daño capilar

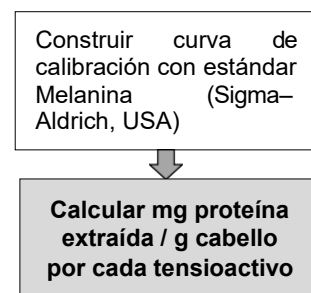


Figura 63. Procedimiento de determinación de daño capilar por espectrofotometría uv-vis. **Fuente:** elaboración propia.

Anexo 30

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE ESTÁNDAR *Sepia officinalis*

SIGMA-ALDRICH		3055 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103 USA Email USA: techserv@sigma.com Outside USA: techserv@sigma.com	
Certificate of Analysis			
Product Name:	MELANIN		
Product Number:	M0418		
Batch Number:	BCBW4997		
Brand:	Sigma		
CAS Number:	8049-97-6		
Formula:			
Formula Weight:			
Storage Temperature:	-20 C		
Quality Release Date:	08 JUN 2018		
TEST	SPECIFICATION	RESULT	
APPEARANCE (COLOR)	DARK BROWN TO VERY DARK BROWN AND BLACK	BLACK	
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER	
PURITY (TLC AREA %)	≥ 97 %	100 %	
SOLUBILITY (COLOR)	BROWN TO VERY DARK BROWN AND BLACK	VERY DARK BROWN	
SOLUBILITY (METHOD)	20 MG/ML 1N NH ₄ OH	20 MG/ML 1N NH ₄ OH	
CARBON CONTENT	44.0 - 56.0	51.4 %	
NITROGEN CONTENT	6.0 - 7.5	6.6 %	
CELL CULTURE TEST	PASS	PASS	
 Dr. Reinhold Schwemmer Quality Assurance Buchs, Switzerland			
Sigma-Aldrich warrants that at the time of the quality release or subsequent release date this product conformed to the information contained in this publication. The current specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.			
Sigma-Aldrich	Certificate of Analysis - Product M0418-1 or BCBW4997		Page 1 of 1

Figura 64. CoA de estándar *Sepia officinalis*.